Aus der Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenkrankheiten
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. D. Plester

Tierexperimentelle Untersuchungen zur Entstehung der Perilymphe; intraperitoneale Applikation des Farbstoffes

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
ELMAR GÖBEL
aus Lauda

1985

LIBRARY
LELAND
STANFORD
JUNIOR

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546514_0012

Aus der Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenkrankheiten
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. D. Plester

Tierexperimentelle Untersuchungen zur Entstehung der Perilymphe; intraperitoneale Applikation des Farbstoffes

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
ELMAR GÖBEL
aus Lauda

1985

Dekan: Professor Dr. H. D. Waller
1. Berichterstatter: Professor Dr. D. Plester
2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. G. Richard

Druck: Zeeb-Druck, Tübingen 7 (Hagelloch)

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1	Einleitung	1
1.1	Literaturübersicht	1
2	Eigenes Vorhaben	8
2.1	Material und Methoden	9
2.1.1	Allgemeines und Gesamtverlauf eines Experiments	9
2.1.2	Beschreibung der Einzelvorgänge und Materialien	10
2.1.2.1	Versuchstiere	10
2.1.2.2	Narkose und OP-Vorbereitung	11
2.1.2.3	Farbstoffapplikation	13
2.1.2.4	Operation	15
2.1.2.5	Einfrieren und Sägen des Präparates	18
2.1.2.6	Schneiden im Kryotom	20
2.1.2.7	Mikroskopie im Normal- und UV-Licht	22
2.1.2.8	Dokumentation	25
2.1.2.9	Auswertung	27
2.1.2.10	Vorversuche zur quantitativen Auswertung	29
3	Ergebnisse	32
3.1	Leerwerte	32
3.2	Fluoreszeinversuche	33
3.2.1	Extracochleäre Strukturen	33
3.2.2	Cochlea	36
4	Diskussion	39
4.1	Interpretation der eigenen Ergebnisse	39
4.1.1	Leerwerte	39
4.1.2	Fluoreszeinversuche	40
4.2	Vergleich mit anderen Autoren	49
5	Zusammenfassung	77
6	Literaturverzeichnis	79
7	Anhang: Tabellen und Abbildungen	84
7.1	Narkose	84
7.2	Ergebnisse	88
7.3	Technisches	95
	Lebenslauf	98
	Danksagung	99

1. Einleitung und Problemstellung

Trotz jahrzehntelanger, intensiver Bemühungen, detailierte und gesicherte Kenntnisse über Entstehung, Verteilung und Resorption der Innenohrflüssigkeiten zu gewinnen, werden diese Fragen noch immer kontrovers diskutiert und sind somit als ungeklärt zu betrachten. Die Hauptursachen dafür sind in der schwer zugänglichen Lage des Labyrinthes, dem außerordentlich geringen Volumen dieser Flüssigkeitsräume von nur wenigen Mikrolitern und den daraus resultierenden Konsequenzen, nämlich der Gewinnbarkeit nur sehr kleiner Proben und der Empfindlichkeit des Systems gegenüber geringsten Druck- und Volumenschwankungen zu sehen.

1.1 Literaturübersicht

Als mögliche Quellen der Perilymphe wurden die Endolymphe, das Blutserum und der Liquor cerebrospinalis, teils allein, teils parallel nebeneinander betrachtet.
Die erstgenannte Theorie findet z. Zt. kaum noch Anhänger. Anatomen des letzten Jahrhunderts hatten aus ontogenetischen Untersuchungen den Schluß gezogen, die in der Embryonalentwicklung früher vorhandene Endolymphe liefere die Flüssigkeit für die sich später bildenden Perilymphräume (nach RAUCH 1964). WALTNER (1954) fand bei der Katze nach Entnahme von 5 - 25 mg Perilymphe durch Punktion des Runden Fensters am anschließend histologisch aufgearbeiteten Prä-

parat eine Einziehung der Reissnermembran und der Basalmembran zur Scala tympani hin, sowie fibrinöse Niederschläge im Endolymphraum. Wegen des Fehlens solcher Präzipitate im Perilymphraum und der Prallfüllung der Gefäße der Stria vascularis sah er darin Zeichen kompensatorisch überstürzter Endolymphproduktion als Ersatz für die abgesaugte Perilymphe. Desweiteren fand er beim Vergleich der UV-Absorptionsspektren und des Gesamtstickstoffgehaltes von Perilymphe und Liquor cerebrospinalis so große Unterschiede, daß er freien Liquorfluß durch den Aquaeductus cochleae ausschloß und insgesamt folgerte, die Endolymphe und nicht der Liquor cerebrospinalis sei die Muttersubstanz der Perilymphe.

Der Entdeckung des Aquaeductus cochleae als möglicherweise offener Verbindung zwischen Liquorraum und Perilymphraum folgte seine Vermessung sowie die Erforschung seines Feinbaus und seiner Durchgängigkeit bei verschiedenen Spezies. RITTER und LAWRENCE (1965), KARBOWSKI (1930) und MEURMANN (1928) stimmen in ihren Ergebnissen vollkommen überein, wonach der Aquaeduct einen bei niederen Mammalia kurzen und weiten, bei Primaten langen und engen, in vielen Fällen sogar obliterierten Kanal darstellt. Er ist bei allen untersuchten Spezies von Dura ausgekleidet und enthält einen Arachnoideaausläufer, der ihn teils als kompaktwandiger Hohlschlauch, teils als lockeres Maschenwerk durchzieht und zur Scala tympani scharf begrenzt, die Nische des Runden Fensters ausfüllend, zur Membran des Runden Fensters

zieht. Die oben genannten und andere Autoren überprüften die Durchgängigkeit des Aquaeducts auch durch suboccipitale oder intralumbale Injektion von verschiedenen Markierungsstoffen. Das Erscheinen des in Mengen zwischen 15 Mikrolitern und zwei Millilitern applizierten Markers in der cochleären Perilymphe wurde meist als physiologische, cochleawärts gerichtete Strömung durch den Aquaeduct, und somit als Beweis dafür angesehen, daß der Liquor cerebrospinalis die Quelle der Perilymphe darstelle, oder an ihrer Produktion zumindest beteiligt sei (ALTMANN und WALTNER 1947, ARNOLD und v. ILBERG 1971, ARNOLD et al. 1972, ARNOLD et al. 1973, ANGELBORG 1973, GISSELSSON 1949, HUGHES und CHOU 1963, JAKO et al. 1959, JUHN und GUZOWSKI 1973, JAMPOLSKI 1935, KLEY 1951, MEURMANN 1929, ORSULAKOVA 1975, SCHUKNECHT und SEIFI 1963, v. SVANE-KNUDSEN 1958). Auch perivasale und perineurale Lymphspalten entlang dem VIII. Hirnnerven im Inneren Gehörgang und Modiolus wurden als mögliche Strombahnen von Liquor cerebrospinalis in Richtung Perilymphraum gefunden (ALTMANN und WALTNER 1947, ARNOLD und v. ILBERG 1971, JAMPOLSKI 1935, SCHREINER 1966, v. SVANE-KNUDSEN 1958). SANDO et al. (1971) beschrieben feinste Knochenkanälchen in der Lamina spiralis ossea als Hauptweg des Liquors zu den Perilymphscalen und als mögliche Verbindung zwischen Perilymph- und Cortilymphraum. Andere Autoren markierten die Perilymphe durch Eindiffusion eines Markers nach Füllen der gesamten Bulla tympanica (HAUG et al. 1978, MAASS und STUPP 1974, QUIX und v. EGMONT 1933), oder durch invasives Einbringen in den Perilymphraum (ALT-

MANN und WALTNER 1950, KLEY 1951, HUGHES und CHOU 1963, MEURMANN 1929, ORSULAKOVA 1975, SCHREINER 1961). In einigen Fällen zeigte sich die Testsubstanz im Liquorraum, wie zum Beispiel bei ALTMANN und WALTNER (1950), die jedoch von Rückfluß sprachen, also eine normalerweise cochleawärts gerichtete Strömung annahmen, aber dennoch die Durchgängigkeit des Aquaeducts in beide Richtungen bewiesen hatten. Bei anderen Autoren war der Tracer im Liquorraum überhaupt nicht, oder langsamer und in geringeren Konzentrationen als erwartet nachweisbar, was meist ebenfalls als Folge einer cochleawärts gerichteten, die zentripetale Ausbreitung der applizierten Substanz behindernden Gegenströmung angesehen wurde. ORSULAKOVA (1975) prägte dafür den Begriff "Einbahnstraßenphänomen für Diffusion", hielt jedoch für bestimmte Substanzen aktiven Transport in die Gegenrichtung für möglich.

Aus der physikalischen Tatsache der Nichtkomprimierbarkeit von Flüssigkeiten folgt für all diese Versuche logischerweise, daß das Einbringen von im Vergleich zum Volumen des Zielkompartimentes großen Flüssigkeitsmengen zu normalerweise nicht vorhandenen Strömungen führen muß. Der Versuch, dies im Falle intrathekaler Applikation durch vorherige Entnahme einer äquivalenten Liquormenge zu verhindern, sei es durch Absaugen, einfaches Herauslaufenlassen (ANGELBORG 1973, eine ganze Minute lang!) oder mittelbares Herauspressen (ARNOLD 1972 und 1973), kann nicht überzeugen, da auch auf diese Weise unphysiologische Druck- und Sogkräfte zur Änderung der Strömungsverhältnisse führen können. Erfolg-

versprechend scheint hier nur, bei direkter Markierung eines Kompartiments die Applikationsmenge drastisch zu senken und durch geeignete Abdichtungsmaßnahmen darüberhinausgehende Flüssigkeitsverschiebungen zu verhindern (KOMMOSS und GIEBEL 1978, GIEBEL 1982). Eine weitere Möglichkeit besteht darin, den Marker eindiffundieren zu lassen (QUIX und v. EGMONT 1933, MAASS und STUPP 1974, HAUG und GIEBEL 1978, KAUPP und GIEBEL 1980), oder ihn systemisch zu verabreichen (APPLEBAUM 1982, ARNOLD et al. 1972, ARNOLD et al. 1973, GIEBEL 1982, GISSELSSON 1949, GRAF und PORETTI 1950, JAKO et al. 1959, KLEY 1951, MAASS und STUPP 1974, ORSULAKOVA 1975, SCHREINER 1961). In den meisten dieser Arbeiten wurde allerdings bei der Detektion durch Eröffnung eines Kompartiments und Entnahme flüssiger Proben dort ein Unterdruck erzeugt, der wiederum zu artefiziellen Strömungen führen mußte. Belege dafür, daß eine zentrifugale Strömung durch den Aquaeduct erst nach Eröffnung des Perilymphraums eintritt, oder im Falle ihres vorherigen Bestehens durch den bei der intrathekalen Injektion angewandten Druck sehr verstärkt wird, finden sich bei ALTMANN und WALTNER (1947), GISSELSSON (1949), JAKO et al. (1959), JAHNKE (1973) und MEURMANN (1929). Einen weiteren Hinweis für die nicht zu vernachlässigende Auswirkung dieses Effekts und gleichzeitig eine geeignete Methode, ihn zu vermeiden, beschreibt SCHREINER (1963), der nach suboccipitaler Traceranwendung in der Cochlea bei Entnahme flüssiger Perilymphproben hohe, bei Probengewinnung vom gefrorenen Präparat nur sehr geringe Konzentrationen bzw. keinen Marker

nachweisen konnte.
Die Gefrierpräparationstechnik fand Anwendung bei GIEBEL (1974), GRAF und PORETTI (1950), MAASS und STUPP (1974) und ORSULAKOVA (1975), und in abgewandelter Form, die man als Kombination der Gefriertechnik mit der in der Histologie üblichen Serienschnittechnik auffassen kann bei GIEBEL (1974), HAUG et al. (1978), KAUPP und GIEBEL (1980), KOMMOSS und GIEBEL (1978) und GIEBEL (1982). Nach Anwendung unterschiedlicher Marker und Applikationsarten erfolgte bei diesen Autoren das Schockgefrieren des Tierkopfes in flüssiger Luft und die Verteilungsanalyse der verwendeten Substanz im Kryotom mit fotografischer Dokumentation. Die Einhaltung der Kühlkette bewirkte, daß niemals ein Kompartiment eröffnet wurde, solange sein Inhalt noch flüssig war und verhinderte damit das Auftreten artefizieller Strömungen.

WITTMAAK vertrat 1942 erstmals die Ansicht, die Perilymphe werde ausschließlich im Innenohr selbst durch Diffusion und Filtration aus den Gefäßen gebildet, während andere Autoren dies nur als zusätzliche Möglichkeit neben der Entstehung aus dem Liquor cerebrospinalis betrachteten (JAKO et al. 1959, KLEY 1951, NEIGER 1968, NOMURA 1961, ORSULAKOVA 1975, SCHNIEDER 1974, SCHREINER 1966, SILVERSTEIN 1969). Auch GRAF und PORETTI (1950) traten für die Ultrafiltrationstheorie ein. SCHNIEDER tauschte 1974 die Perilymphe komplett gegen einen Farbstoff aus und maß dessen Verdünnungskinetik. Bei alleinigem Nachströmen von Liquor

hätte der Konzentrationsabfall wegen der Unabhängigkeit der treibenden Kraft von der aktuellen Farbstoffkonzentration linear erfolgen müssen. Bei Ultrafiltration dagegen mußte die Konzentration nichtlinear abfallen, da die Vis a tergo mit zunehmender Verdünnung kleiner wird, und so geschah es. Einen anderen Weg beschritt SCHINDLER (1965), indem er die Zusammensetzung von Perilymphe, Blutserum und Liquor cerebrospinalis bezüglich einiger Elektrolyte, Enzymaktivitäten und Glukosespiegel mit statistischen Methoden (Ähnlichkeitsmatrizen und Deckungsgrad von Verteilungskurven) verglich. Er schließt den Liquor als Muttersubstanz der Perilymphe aus und betrachtet sie als reines Ultrafiltrat des Serums. GIEBEL, der 1974 die Aminosäuren und Proteinfraktionen beider Innenohrflüssigkeiten mit denen des Serums und Liquors mittels mikroquantitativer Methoden verglich, zieht aus seinen Ergebnissen den Schluß, daß die Innenohrlymphen nicht ausschließlich Ultrafiltrate, weder des Serums, noch des Liquors sein können. CITRON et al. (1956) betrachteten nach Vergleich des Elektrolyt- und Proteingehaltes den Perilymphraum als eine Ausstülpung des Liquorraums mit engem Zugang und erklärten den im Vergleich zum Liquor höheren Proteingehalt der Perilymphe durch das Vorhandensein einer semipermeablen Membran am distalen Ende des Aquaeducts (Membrana limitans) bzw. als Folge der Abbremsung des Flüssigkeitsstroms.

Eine Reihe anderer Autoren berichtet über teilweise histologisch nachgeprüfte, erfolgreiche experimentelle Obturation des Aquaeducts an Labortieren (KIMURA et al. 1974, KLEY

1951, SANDO et al. 1971, SCHUKNECHT und SEIFI 1963). Sie fanden kein Versiegen der Perilymphe, keine Verschiebung der Balance zwischen Endo- und Perilymphe und keine sonstige morphologische Veränderung im Innenohr, die sich auf diese Maßnahme hätte zurückführen lassen. Auch der Vergleich prä- und postoperativ durchgeführter Tonschwellenaudiometrie zeigte keine Veränderung durch die Aquaeductblokkade. Die eingangs erwähnten anatomischen Studien an Felsenbeinen von Primaten (RITTER und LAWRENCE 1965, KARBOWSKI 1930, MEURMANN 1929), die dort einen sehr engen und zum Teil von Natur aus verschlossenen Kanal zeigten, sprechen ebenfalls gegen die Unabdingbarkeit des Aquaeducts bei der Perilymphentstehung. Nur sehr wenige Menschen haben einen offenen Aquaeductus cochleae, der bei intraoperativer oder traumatischer Labyrintheröffnung Otoliqorrhoe verursachen kann. RAUCH (1964) vermutet als weitere mögliche Ursache eine Dehiszenz zwischen dem Vestibulum und dem Kanal des Nervus facialis.

2. Eigenes Vorhaben

Um der Frage nach Entstehung, Strömung und Resorption der Innenohrflüssigkeiten, sowie ihrer Beziehung zum Liquorraum ein Stück näher zu kommen, soll am Meerschweinchen eine Reihe von Farbstoffexperimenten mit Fluoreszein als Markierungssubstanz unternommen werden. Der zu Beginn erwähnten Empfindlichkeit des Labyrinths gegenüber Druckschwank-

ungen und Volumenverschiebungen soll dabei durch die Wahl der Applikationsart (systemisch) und entsprechendes Vorgehen bei der Analyse der Farbstoffausbreitung (Kompartimenteröffnung erst nach Tiefgefrieren) Rechnung getragen werden.

2.1 Material und Methoden

2.1.1 Allgemeines und Gesamtverlauf eines Experiments

An insgesamt 54 Meerschweinchen wurden 28 gültige Versuche unternommen. Alle Tiere erhielten noch im Tierstall eine intraperitoneale Urethaninjektion, und erst nach Narkoseeintritt erfolgte der Transport in den Tier-OP, wo sie zuerst gewogen und die Trommelfelle inspiziert wurden. Die Reihenfolge des Weiteren Vorgehens richtete sich nach der geplanten Versuchsdauer. Sollte sie 45 Minuten oder mehr betragen, kam die Farbstoffinjektion zuerst, weil diese Zeit für die Operation und ihre Vorbereitung vollkommen ausreichte. Bei kürzerer Versuchsdauer wurde zuerst das Hinterhaupt zwischen den Ohre mit der Schere enthaart und das Versuchstier in einen Kopfhalter eingespannt, der an den parallel stehenden knöchernen Orbitaoberkanten zangenartig ansetzte. Es folgte die beidseitige Freilegung und Eröffnung der Bullae tympanicae. Am Ende der geplanten Versuchsdauer konnten so beide Cochleae vor dem Durchgefrieren

des ganzen Tierkopfes mit einem feinen Strahl flüssiger Luft aus 20ml-Einmalspritzen gefroren werden. Aus dem tiefgefrorenen Kopf wurde dann mit einer Heimwerkerbandsäge ein Gewebeblock herausgesägt, der beide Innenohren und die sie umgebenden Strukturen enthielt. Das so gewonnene Präparat konnte im Eisschrank bis zur Weiterverarbeitung bei -30°C aufbewart werden. Die Analyse der Farbstoffausbreitung erfolgte im Kryotom durch Abtragung dünner Schichten und Betrachten der Schnittfläche unter UV- und Normallicht mit dem Stereomikroskop. Zur sicheren Dokumentation der Befunde wurden die wichtigsten Schnittebenen fotografiert und die Fluoreszenzverteilung zusätzlich in ein Schema eingetragen. Zu jedem Präparat und zu jedem Film war sorgfältige Protokollführung obligat, um möglichst viel Information zu konservieren. Bei den letzten 15 Präparaten erfolgte während des Schneidens die Entnahme von Flüssigkeitsproben als Vorversuche für eine quantitative Bestimmung der Fluoreszeinverteilung.

2.1.2 Beschreibung der Einzelvorgänge und Materialien

2.1.2.1 Versuchstiere

Das Körpergewicht der Meerschweinchen lag zwischen 265 und 965 Gramm mit der Verteilung $\bar{x} = 447 \pm 138$ Gramm. Vier der Tiere wogen über 600 Gramm; bei ihnen war wegen der fortge-

schrittenen Skelettmineralisierung die Bullaeröffnung und das Schneiden im Kryotom mit Schwierigkeiten verbunden (näheres siehe dort).
Die Trommelfellinspektion zur Befundung des Mittelohres erfolgte in Narkose mittels Stereomikroskop (OpMi II, Zeis, Oberkochen) und kleinem Ohrtrichter. Ohrkranke Tiere wurden jedoch erst ab Versuch Nr.43 ausgesondert. Manche Tiere zeigten ein vollkommen reizloses Trommelfell, und erst bei der Bullaeröffnung oder beim Zusägen des Präparates stellte sich eine beginnende Mittelohrentzündung mit partiellem Seromucotympanon heraus. Anfangs wurden einseitig ohrkranke Tiere auch deshalb in die Versuche miteinbezogen, um eventuelle Unterschiede in der Fluoreszeinverteilung zwischen krankem und gesundem Ohr feststellen zu können.

2.1.2.2 Narkose und OP-Vorbereitung

Als Narkotikum kam Urethanlösung in einer Konzentration von 40g/100ml zur Anwendung. Die erste Charge, ein Restbestand früherer Experimente, der für die ersten 11 Tiere reichte, war in Ampuwa gelöst. Beim zweiten Ansatz, der für alle anderen Experimente verwendet wurde, diente Trispuffer mit pH 7,4 als Lösungsmittel. Dadurch sollte die Verträglichkeit verbessert werden. Als positiver Nebeneffekt ging auch der Lösungsvorgang schneller vonstatten.
Als Initialdosis wurde anfänglich, entsprechend den Ausführungen von KOMMOSS (1978), 1,2ml gewählt und, als sich

dies als ungenügend erwies, je nach Größe des Versuchstieres auf bis zu 2,0ml erhöht. Es zeigten sich große Unterschiede in der Verträglichkeit und Wirksamkeit des Narkotikums. Nur bei acht Tieren genügte die Erstinjektion, bei allen anderen Fällen waren bis zu sieben Nachinjektionen erforderlich. Manche Tiere waren von relativ geringen Anfangsdosen schnell und tief narkotisiert, andere zeigten nach Injektion weit höherer Dosen fast keine Wirkung. Eine hohe Initialdosis garantierte keineswegs eine schnelle und ausreichende Wirkung und beinhaltete die Gefahr des vorzeitigen Ablebens des Versuchstieres. Dies geschah auch einige male, sodaß schließlich dazu übergegangen wurde, bei mittlerer Anfangsdosis das Wirkungsoptimum in häufigen kleinen Nachinjektionen zu erreichen. Zur Verdeutlichung dieses Sachverhaltes dienen die Diagramme 1 und 2 (siehe Anhang), die zeigen, daß kaum eine Relation zwischen Initialdosis und erforderlicher Nachinjektions- bzw. Gesamtdosis bestand.

Wie bereits oben erwähnt, erhielten die Tiere die Erstinjektion noch im Tierstall. Dies hatte mehrere Gründe: Der Gesamtstress, der auf die Tiere einwirkte, sollte möglichst gering gehalten werden, sowohl aus humanitären Gründen, als auch um Artefakte zu vermeiden. Fluchtreaktionen beim Einfangen waren unvermeidlich, aber alle weiteren Maßnahmen wie Transport in den Tier-OP und die ungewohnte Umgebung dort erlebten die Tiere ausschließlich in Narkose oder zumindest stark gedämpftem Zustand. Zum anderen benötigte das Erreichen einer ausreichend analgetischen Wirkung durch

mehrere Nachinjektionen Zeit, die sich für nichtschmerzen-Tätigkeiten wie Trommelfellinspektion, Wiegen und Enthaarung nutzen ließ. Zwischendurch wurde durch Kneifen der Ohrmuschel mit einer Pinzette oder Kocherklemme die Narkosetiefe immer wieder kontrolliert und im Bedarfsfall nachinjiziert.

2.1.2.3 Farbstoffapplikation

Wie schon von GISSELSSON (1949, iv. und suboccipital), GRAF und PORETTI (1950, intraperitoneal und sc.), KLEY (1951, sc.) und JAKO et al. (1959, intralumbal und iv.) wurde auch hier Fluoreszein als Marker verwendet. Seine Natriumverbindung heißt auch Uranin und weist eine grüngelbe Fluoreszenz auf, die in Konzentrationen bis zu 10^{-11} nachweisbar ist (abc chemie). Das Molekulargewicht beträgt 332, die Verbindung ist sehr wenig toxisch und besitzt eine hohe Affinität zu Eiweißen (GRAF und PORETTI 1950).
Die Versuchstiere Nr.2 - 8 erhielten nur 0,5ml einer 2%igen Lösung intraperitoneal appliziert; die Versuchsdauer lag zwischen 65 und 382 Minuten. Die Auswertung der ersten Präparate im UV-Licht ergab keine wesentlichen Unterschiede in Verteilung und Intensität der Fluoreszenz, sodaß es wünschenswert schien, anhand eines Leerwertes festzustellen, welcher Anteil der Fluoreszenz auf Eigenfluoreszenz der biologischen Strukturen und welcher auf spezifischer Fluoreszeinfluoreszenz beruhte. Dazu wurde ein Tier der glei-

chen Prozedur unterzogen (Bullaeröffnung, Einfrieren) wie seine Vorgänger, jedoch ohne Farbstoffapplikation. Überraschenderweise bot sich im Kryotom das gleiche Bild wie bei den farbstoffmarkierten Tieren, woraufhin die folgenden fünf Versuchstiere höhere Farbstoffmengen erhielten (1x 0,5 ml 10%ig, 1x 2ml 10%ig, 3x 2ml 2%ig). Die Auswertung dieser Präparate ergab Unterschiede in der Fluoreszenzintensität, die die sich mit den applizierten Fluoreszeinmengen in keine Relation bringen ließen und bei der fotografischen Dokumentation immer wieder zu falschen Belichtungszeiten führten.

Die Versuche Nr.14 und 15 wurden als Zwischenexperimente eingeschoben mit der Fragestellung, ob Fluoreszein, wie GISSELSSON (1949) schreibt, im Liquor erscheint oder nicht, da die Erfahrungen von GIEBEL gegenteiliger Natur sind. Leider mißglückten beide Experimente, doch zeigte sich im UV-Licht bei den mit freigelegter Membrana atlantooccipitalis nebeneinanderliegenden Tieren, daß das Operationsgebiet des einen sehr stark fluoreszierte, das des anderen jedoch kaum, obwohl beide 2ml 10%iger Fluoreszeinlösung intraperitoneal erhalten hatten. Das schwächer fluoreszierende Tier bekam nochmals 1ml nachinjiziert, was an der Fluoreszenzstärke jedoch nichts änderte. Die Erklärung dafür konnte nur unterschiedliches Resorptionsverhalten sein, was sich bei den folgenden Versuchen bestätigte. Bei den Versuchen Nr.16 - 25 wurde nach Farbstoffapplikation auf Gelbfärbung von Pfoten und Nase geachtet und der Befund im Protokoll eingetragen. Von den 16 Tieren mit sicher rekonstruierbarem

Resorptionsgrad (Nr.9 - 25) hatten acht gut und acht schlecht resorbiert. Von den acht gut resorbierenden hatten fünf eine einseitige Otitis media, von den anderen acht jedoch kein einziges. Ein Zusammenhang zwischen Resorptionsverhalten und Gesundheitszustand erscheint hier wahrscheinlich.
Auch GRAF und PORETTI (1950) fanden bei intraperitonealer Applikation unterschiedliches Resorptionsverhalten und injizierten deshalb subcutan. Ab Versuch Nr.26 wurde diesem Beispiel gefolgt mit dem gleichen Ergebnis, erkennbar an deutlicher Gelbfärbung der unbehaarten Körperstellen der Versuchstiere wenige Minuten nach Farbstoffinjektion. Die Applikation erfolgte auf zwei Portionen a 1ml verteilt unter die Rückenhaut nach Enthaarung eines etwa 3x4 cm großen Areals. Gegen Ende der Versuchsreihe wurden nochmals zwei Tiere ohne Farbstoffapplikation präpariert, um auch für die oben erwähnten Vorversuche zur quantitativen Fluoreszeinbestimmung Leerwerte zu erhalten (näheres siehe 2.1.2.10).

2.1.2.4 Operation

Die Operation bestand in der Freilegung und Eröffnung beider Bullae tympanicae, um am Ende der Versuchsdauer beide Cochleae mit einem feinen Strahl flüssiger Luft vorgefrieren zu können. Der Grund für diese Maßnahme liegt darin, daß beim Meerschweinchen die Cochlea frei in die Bulla tympanica hineinragt, wobei ihre Achse etwa parallel zum Na-

senrücken steht. Das sie umgebende Luftpolster wirkt thermisch isolierend und wahrscheinlich deswegen kommt es zu Blutungen in die cochleären Scalen, wenn man den ganzen Kopf des Tieres einzeitig eingefriert, ohne die Cochleae vorzugefrieren (HAUG 1978).

Vorgehen: Nach ausreichender Analgesie wurde das Versuchstier in den oben beschriebenen Kopfhalter eingespannt und dieser an einem Tischstativ so befestigt, daß jeweils die zu operierende Seite der Occipitalgegend dem Operateur zugewandt war. Nach bogenförmigem retroauriculärem Hautschnitt, etwa auf halbe Länge des Ohrmuschelansatzes und etwas medial davon geführt, konnte unter mikroskopischer Kontrolle durch Abspreizen der Ohrmuschel und scharfer Durchtrennung von Faszien und Fettgewebe bereits die Muskelloge dargestellt werden. Leitstruktur bildete die percutan gut tastbare Hinterhaupschuppe und, nach Erreichen der Muskelschicht, die gut sichtbare Grenzlinie zwischen dem rostral gelegenen Musculus temporalis und dem caudal gelegenen Musculus sternocleidomastoideus, der mit dem Musculus trapezius eine Einheit bildet (RAUCH 1964). Letztere wurden nahe ihrem Ursprung in der Gegend der Occipitalschuppe etwa 3 - 4mm breit quer, und anschließend senkrecht dazu knapp hinter der Grenze zum Musculus temporalis längs bis in Höhe des äußeren Gehörgangs scharf durchtrennt und mittels Präpariertupfer nach caudal abgeschoben. Darunter erschien der die Bulla enthaltende, an seiner charakteristischen, apfelsinenschalenartigen Oberfläche leicht erkennbare Mastoid, der bei Tieren von weni-

ger als etwa 600 Gramm Körpergewicht wegen seiner Weichheit mit dem Skalpell durch Abheben eines kleinen "Deckels" leicht zu öffnen war. Die Stelle, an der man ansetzen mußte, war an einer kleinen Vorwölbung zu erkennen, und wenn man sie richtig getroffen hatte, "fiel" man förmlich in die Bulla hinein. Bei größeren Tieren mußte durch drehende Bewegungen mit der Skalpellspitze ein Loch gebohrt und durch schabende Skalpellbewegungen erweitert werden. Vor der Bullaeröffnung wurde der Nervus facialis, der wenige Millimeter hinter dem äußeren Gehörgang den Schädelknochen verläßt, aufgesucht und ohne Zerrung scharf abgetrennt, um Artefakte durch Druckentlastung des Liquorraums zu vermeiden. Die Operation wurde nacheinander an beiden Seiten durchgeführt, was in günstigen Fällen, wenn nur geringe Blutungen auftraten, etwa sechs bis sieben Minuten dauerte. Meist traten jedoch schon beim Hautschnitt venöse Blutungen auf, die aber durch Kompression mit einem Zellstoff- oder Präpariertupfer binnen weniger Minuten sicher zu beherrschen waren. Größere Blutungen konnten vermieden werden, wenn man den Hautschnitt nicht zu weit nach caudal ausdehnte, da hier eine relativ großlumige Vene verläuft. Erst nach vollständiger Blutstillung wurde die Bulla eröffnet, um artefizielle exogene Blutansammlungen im MIttelohr zu vermeiden. Danach waren die Cochleae bereit für den Gefriervorgang.

2.1.2.5 Einfrieren und Sägen des Präparates

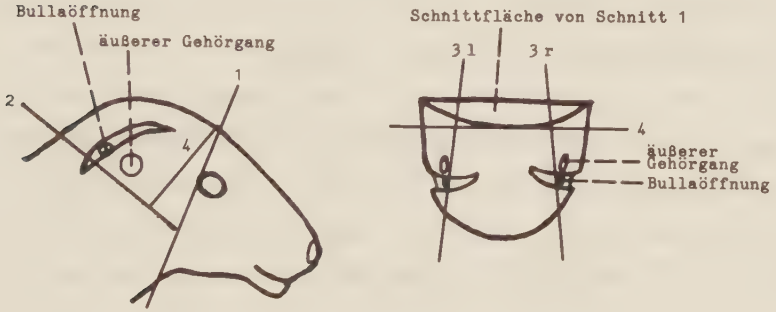
Zum Vorgefrieren der Cochleae blieb das Versuchstier in den Kopfhalter eingespannt. Die 20ml-Einmalspritzen waren mit passenden Stativklemmen als Handgriff versehen und konnten so durch Eintauchen in ein Dewargefäß mit flüssiger Luft gefüllt werden. Anfänglich wurden die eisernen Griffstangen zum Schutz der Hand des Benutzers vor der Kälteleitung mit dicken Zellstofflagen umwickelt, was sich aber auf die Handhabung der Vorrichtung sehr negativ auswirkte. Nachdem die Zellstofflagen durch selbstgefertigte Holzgriffe ersetzt waren, konnten die Spritzen sicher geführt und der Strahl flüssiger Luft genau in die Bullaöffnung gehalten werden.

Als Verschluß fand der zu den Spritzen gehörende Stempel Verwendung, der etwa einen Zentimeter tief eingeführt wurde und durch Senkrechthalten (dichter Abschluß) oder Verkippen (unvollkommener Abschluß) sogar eine Regulierung des Spritzdruckes ermöglichte, der sich durch den Dampfdruck der eingeschlossenen und jetzt der Umgebungstemperatur ausgesetzten flüssigen Luft aufbaute.

Auf den Spritzenkonus war anfangs eine auf etwa 1,5cm verkürzte Metallkanüle Nr.12 als Spritzdüse aufgesetzt. Ihr Ersatz durch eine gleichlange Kunstoffbraunüle verringerte die Gefahr, bei zu tiefem Eindringen in die Bulla die Cochlea zu verletzen oder gar zu zerstören wesentlich.

Nach dem Vorgefrieren beider Cochleae mit je einer Spritzenfüllung und der Befreiung des Versuchstieres aus dem

Kopfhalter erfolgte sofort das Durchgefrieren des ganzen Kopfes durch Eintauchen in das mit flüssiger Luft gefüllte Dewargefäß für etwa eine Minute. Enthaarung des Kopfes durch einfaches Abschaben und Abbrechen der hartgefrorenen Ohrmuscheln mittels Knochenbrechzange erleichterte die Orientierung und Handhabung beim Sägen.



Mit dem ersten Sägeschnitt (siehe Abb.), etwa in der Frontalebene hinter den Augen, wurde der Gesichtsschädel abgetrennt. Der zweite, etwa in der Horizontalebene liegende Schnitt, trennte bereits das Präparat vom Rumpf. Er verlief von occipital nach rostral, drei bis vier Millimeter caudal der Bullaöffnung parallel zum Nasenrücken und damit auch zur Ebene der Cochleaachsen (identisch mit der Schnittebene im Kryotom. Mit dieser zweiten Schnittfläche nach unten liegend erfolgten beidseits Sagittalschnitte. Sie führten genau durch die Öffnungen der Bullae, eröffneten diese breit und verschafften Blick auf die Cochleae, was für die

seitengleiche und achsengerechte Ausrichtung des Präparates auf dem Kryotisch von wesentlicher Bedeutung war. Ein abschließender Sägeschnitt (Nr.4) in der Frontalebene, senkrecht zum zweiten geführt, reduzierte das Präparat auf die wesentlichen Strukturen (beide Innenohren, dazwischenliegende Hirnteile und die sie umgebenden Knochen und Weichteile) und befreite es vor allem von Resten des Gebisses, die, ihrer Härte wegen, am Kryotommesser Scharten hinterlassen hätten.
Auftauerscheinungen am Präparat wurden durch wiederholtes Eintauchen in flüssige Luft verhindert. Nach dem Zurechtsägen konnte es, zum Schutz gegen Austrocknung in Zellstoff und Parafilm eingewickelt, bei -30°C im Kühlschrank nötigenfalls wochenlang aufbewahrt werden. Meist jedoch erfolgte die Aufarbeitung im Kryotom bereits nach wenigen Tagen.

2.1.2.6 Schneiden im Kryotom

Das hier verwendete Gerät (WK 1150 der Firma WKF, Brandau) besteht aus einem tischhohen Gestell mit einer Platte, unter der die Kühlaggregate für Gehäuse und Schneidetisch, sowie der Antriebsmotor für das Mikrotom nebst Fußschalter montiert sind. Das Schneidegerät selbst befindet sich zusammen mit den Kühlrippen der Raumkühlung auf der Oberseite der Platte unter einem würfelförmigen, dickwandigen, thermoisolierten Kunstoffgehäuse, dessen Bedienungsseite in den oberen zwei Dritteln und seitlich zu je einem Drittel abge-

schrägt ist. Das Gehäuse hat vier Öffnungen, rechts eine für die Antriebsachse des Mikrotoms, die mit einem langen Nylonriemen mit der Motorachse verbunden ist, in den seitlichen Schrägen je eine verschließbare Öffnung, die das Manipulieren innerhalb des Gehäuses ermöglicht und in der oberen Abschrägung ein rechteckiges Fenster mit herausnehmbarer Glasscheibe zum Einführen des Mikroskops und der Beleuchtungseinrichtung für UV-Licht. Links neben dem Gehäuse befinden sich die Bedienungselemente für die Kühlung. Hier wurden Tisch- und Raumtemperatur eingestellt, letztere auf $-15^{\circ}C$.

Das Mikrotom führt durch vertikale Hubbewegungen das Schneideobjekt am feststehenden Messer entlang, wobei die horizontale Zustellung (Schnittdicke) auf Werte zwischen null und 40 Mikrometer eingestellt werden kann. Die Befestigung des Präparates auf dem bis $-45^{\circ}C$ kühlbaren Kryotisch erfolgte mittels nasser Zellstoffkompressen, die bei zugeschalteter Schnellkühlung binnen Sekunden festfroren. Da an dem Präparat die Cochleae sichtbar waren, bereitete es keine Schwierigkeiten, sie mit nach unten weisenden Spitzen so auszurichten, daß die durch beide Cochleaachsen gedachte Ebene parallel zur Schnittebene lag, zumal durch Drehen des Messers um die Vertikale eine leichte Asymmetrie ausgleichbar war. Nach komplettem Durchgefrieren des Präparat-Zellstoffpakets wurde durch Abschalten der Schnellkühlung die Tischtemperatur auf $-20^{\circ}C$ erhöht, da bei tieferen Temperaturen das Objekt spröde wird und leicht splittert. Die ersten Schnitte erfolgten mit maximaler Zustellung, bis

der größte Anteil des Präparatquerschnitts im Arbeitsbereich des Messers lag, und dann wurde mit 10 Mikrometer Schnittdicke bis zum Erreichen der prominentesten Teile der Basalwindung weitergefahren. Nach einer Übersichtsaufnahme von dieser Ebene folgte das Auffüllen der Bullae tympanicae mit Bariumsulfatsuspension (Microtrast, Damancy & Co Ltd., Slongh, England), die sofort gefror. Sie diente zum Schutz der Cochleae vor dem Bersten und bewirkte, da sie keine Eigenfluoreszenz aufweist und lichtundurchlässig ist, daß die Hintergrundstrahlung des Mucoperiosts der Bulla abgeschirmt wurde und so die Fluoreszenzerscheinungen in den Cochleae besser zu beurteilen waren.

2.1.2.7 Mikroskopie im Normal- und UV-Licht

Zur Betrachtung des Präparates im Kryotom stand, wie auch schon bei der Bullaoperation, ein Stereomikroskop (OpMi II, Zeiss, Oberkochen) zur Verfügung. Es war mit 12,5fach vergrößernden Okularen bestückt und ermöglichte am Objektiv (f=100mm) 6-, 10-, 16-, 25- und 40fache Vergrößerung. Die interne Beleuchtung bestand aus einer 6V/25W Birne, die für die Normallichtaufnahmen mit 10A aus einem externen Transformator gespeist wurde.
Es war zunächst unmöglich, das gesamte Gesichtsfeld zu fokusieren, da die optische Achse mit der Schnittfläche einen Winkel von circa 60° bildete. Der Grund hierfür lag in der Bauweise des Kryotoms. Das am Schneidetisch befestigte Ob-

jekt befand sich ursprünglich etwa sechs Zentimeter unterhalb und in der Horizontalen 12 - 13 Zentimeter von der Unterkante des Gehäusefensters entfernt, sodaß das Mikroskop zum Betrachten des Präparats um etwa 30° geneigt werden mußte. Es befand sich also immer ein mit zunehmender Vergrößerung schmaler werdender, quer verlaufender Streifen des Gesichtsfeldes in der Ebene scharfer Abbildung, was vor allem bei der fotografischen Dokumentation störte. Da der Kryotisch mit der Hubvorrichtung nur verschraubt war, konnte dieses Problem folgendermaßen gelöst werden: Ein selbstgebauter, zwischen Hubvorrichtung und Kryotisch montierter Adapter verlagerte die Hubbewegung bei gleichbleibender Amplitude um sechs Zentimeter nach oben, sodaß sich das Präparat in der obersten Stellung mit dem Objektiv in gleicher Höhe befand. Natürlich mußte auch das Mikrotommesser um den gleichen Betrag angehoben werden, was durch einen aus massivem Messing gefertigten Sockel erreicht wurde, auf den dann der ursprüngliche Messerhalter geschraubt war (siehe Anhang, Abb. 5 a-c). Vorversuche mit einem aus Hartholz gefertigten Sockel konnten nicht befriedigen, da starke Schwingungen am Messer auftraten, die zu Unebenheiten in der Schnittfläche des Präparates führten. Nachdem diese Schwierigkeit behoben war, konnte das Mikroskop zur Betrachtung horizontal eingestellt werden. Die optische Achse stand jetzt senkrecht zur Schnittebene. Die Scharfstellung des gesamten Gesichtsfeldes war in allen Vergrößerungen möglich, erforderte aber mehr Sorgfalt, denn vorher war immer eine beliebige, querverlaufende Zone des Objekts

scharf abgebildet, wohingegen jetzt bei ungenügender Fokusierung das ganze Bild unscharf wurde.
Zur Anregung des Fluoreszeins diente kurzwelliges Blaulicht. Es wurde mittels Glasfaserlichtleiter (Schott, Mainz) mit hoher Ausbeute auf das Präparat gelenkt und stammte aus der direkt auf dem Mikroskop befestigten Mikroskopierleuchte 250 D1 (Zeiss, Oberkochen), die mit einer Quecksilberhöchstdrucklampe (HBO 200/W/4, Zeiss, Oberkochen) bestückt war. Aus ihrem Emissionsspektrum wurde mittels der Filterkombination LP 450, KP 490, BG 38 und KG 1 (Schott, Mainz) die zur Anregung des Fluoreszeins geeigneten Wellenlängen selektiert. Das so gewonnene Erregerlicht ließ das Präparat intensiv kaltblau erscheinen, wobei die knöchernen Anteile der Cochleae blassrosa hervortraten. Durch den Einsatz des Sperrfilters OG 515 in den Beobachtungsstrahlengang gelang es, den von der Schnittfläche direkt reflektierten Anteil des Erregerlichtes, der das Flureszenzlicht vollkommen überstrahlte, soweit zu eliminieren, daß das auftretende Fluoreszein identifiziert werden konnte.
Im Rahmen der Versuche Nr.1 - 13, als wegen zu geringer Farbstoffdosierung kein Unterschied zwischen markierten Tieren und Leerwerten zu sehen war, wurde versucht, mit anderen Filterkombinationen, deren Durchlassbereiche dem Emissionsspektrum des Fluoreszeins besser entsprachen (anhand ihrer Kennlinien beurteilt), eine Kontrasterhöhung zu erreichen, um eventuell doch vorhandene Spuren des Markers nachweisen zu können. Auf die Schnittfläche aufgelegte,

fluoreszeingetränkte Zellstofffasern dienten dabei als Blindprobe. Rein theoretisch betrachtet hätte die Filterkombination OG 515 und BG 18 (Schott, Mainz) das Optimum dargestellt. Da kein Filter des Typs BG 18 zur Verfügung stand, mußte auf den ihm ähnlichen BG 14 ausgewichen werden. Anstatt der erwarteten Kontrastverstärkung ergab sich jedoch eine Kontrastabschwächung. Die Schnittfläche insgesamt und die an sich rötliche Eigenfluoreszenz der knöchernen Cochlea erschienen wesentlich grüner, sodaß sich die gelbgrüne Fluoreszeinfluoreszenz weit schwächer davon abhob. Deshalb wurde auf den Filter BG 14 verzichtet und alle weiteren Versuche mit dem Filter OG 515 allein durchgeführt, der angesichts der bei subcutaner Farbstoffapplikation sehr viel stärkeren spezifischen Fluoreszenz völlig genügte.

2.1.2.8 Dokumentation

Da bei dieser Versuchsreihe keine auf Objektträgern für längere Zeit konservierbaren Dünnschnitte hergestellt wurden, und das alleinige Eintragen der Befunde in ein Schema, auch bei größter Sorgfalt, einen wesentlichen Informationsverlust bedeutet hätte, wurden die wichtigsten Schnittebenen fotografisch festgehalten. Dazu diente ein Verteilerstück am Mikroskop mit seitlich angebrachtem Winkelstück. Zwischen diesem und der Spiegelreflexkamera, die mit Fernauslöser ausgestattet war, befand sich noch ein Zwischen-

ring und ein Adapter. Bis zum Versuch Nr.41 stand eine Contarex (Zeiss, Oberkochen) zur Verfügung und danach eine Kamera des Typs Nikon F3. Nach einigen Vorversuchen erwies sich der Kodack Ektachrom Daylight (Kodack, Stuttgart-Wangen) mit einer Empfindlichkeit von 400 ASA als der geeignetste Film, zumal er durch "Pushen" auf 1600 ASA relativ kurze Belichtungszeiten ermöglichte. Nachdem durch subcutane Farbstoffapplikation zuverlässig reproduzierbare Resorptions- und damit auch Fluoreszenzwerte erreicht waren, konnten die Belichtungszeiten für UV-Aufnahmen auf 1/2, 1 und 2 Sekunden festgelegt werden, jeweils mit Blende 32. Die Normallichtaufnahmen wurden mit der Contarex bei Blende 64 mit 1/60, 1/125 und 1/250 Sekunden belichtet. Mit der Nikon F3 genügte wegen der der sehr zuverlässig funktionierenden Belichtungsautomatik eine einzige Aufnahme im Normallicht pro Einstellung. Jedes Motiv benötigte also nur noch vier Aufnahmen anstatt sechs. Außerdem konnten auch die Normallichtaufnahmen mit Blende 32 erfolgen, da diese Kamera Verschlußzeiten bis zu 1/2000 Sekunde realisiert. Dadurch entfiel eine mögliche Fehlerquelle, nämlich das Vergessen des Blendenwechsels bei Umstellen der Beleuchtungsart.

Um jeden einzelnen Film sicher identifizieren zu können, wurde als erstes Motiv ein kleines handgeschriebenes Schildchen abgelichtet, das die laufende Versuchsnummer, die Versuchsdauer und die Filmnummer enthielt; sorgfältige Führung eines Filmprotokolls war obligat. Die Aufnahmen der wichtigsten Schnittebenen des Präparats erfolgten möglichst

formatfüllend mit der jeweils höchstmöglichen Vergrößerung. Im einzelnen waren dies in der Reihenfolge ihres Erscheinens: Der Aquaeducttrichter, der Modiolus im tangentialen Anschnitt, der Modiolus axial, die distale Aqaeductmündung, das Vestibulum mit Sacculus und hinterem Bogengang sowie der Saccus und Ductus endolymphaticus, außerdem der Liquorraum zentral zwischen Medulla oblongata und Cerebellum und in den Kleinhirnbrückenwinkeln.
Die zu jedem Einzelversuch geführten Protokollbögen enthielten eine Schemazeichnung, die den Subarachnoidalraum, beide Cochleae in Höhe der Modiolusachsen, die Aquaeducte in ganzer Länge, beide Vestibula sowie die Ductus und Sacci endolymphatici in eine Ebene projezierten. Hier wurde die Fluoreszeinverteilung eingetragen und zusätzlich daneben oder im Filmprotokoll beschrieben.

2.1.2.9 Auswertung

Die Auswertung der am Kryotom gewonnenen Diapositive erfolgte unter Zuhilfenahme der Schnittprotokolle, da bei nicht ganz optimal fokussierten Bildern die Differenzierung der einzelnen Strukturen in den oberen Windungen der Cochlea nicht immer, beim direkten Betrachten des Präparates jedoch meist möglich war.
Die Fluoreszenzstärke wurde zur Vergleichbarkeit der Strukturen innerhalb eines Präparates und der Versuchstiere untereinander nach der folgenden Punkteskala bewertet:

0 = nur Eigenfluoreszenz entsprechend der Leerwerte

1 = fragliche
2 = schwache (aber sichere)
3 = mittelstarke
4 = starke
5 = sehr starke

} spezifische Fluoreszenz

Nach Eintragung der Werte in ein für jede Gruppe getrenntes Schema erleichterte die Zusammenstellung aller Daten in einer Gesamttabelle den Vergleich der Gruppen untereinander und die Objektivierung der beim Betrachten der Diapositive festgestellten Tendenzen.
Der Beobachtungszeitraum umfaßte das Intervall von 15 bis 150 Minuten nach Farbstoffapplikation in 10 Zeitstufen von jeweils 15 Minuten Abstand. Die folgende Aufstellung zeigt die Anzahl der Versuchstiere in den einzelnen Gruppen:

Versuchsdauer:	15'	30'	45'	60'	75'	90'	105'	120'	135'	135'
Gruppenstärke:	4	5	4	3	2	3	1	2	1	3

Von insgesamt 54 Versuchstieren konnten also einschließlich zweier Leerwerte 30 in die Auswertung einbezogen werden. Die restlichen 24 dienten Vorversuchen zur Applikationstechnik, bzw. ließen wegen zu großer Schwankungen des Resorptionsgrades bei intraperitonealer Applikation des Markers keine schlüssigen Aussagen zu. Auch die an Narkosezwischenfällen gestorbenen Tiere sind hier enthalten (vgl. Kapitel 2.1.2.2, 2.1.2.3 und 2.1.2.7).

2.1.2.10 Vorversuche zur quantitativen Auswertung

Zur Erhärtung der in den vorliegend beschriebenen Experimenten gefundenen qualitativen Ergebnisse schien eine quantitative Bestimmung der Fluoreszeinkonzentrationen in verschiedenen Kompartimenten wünschenswert, die jedoch Gegenstand nachfolgender Studien sein werden. Dazu kommen zwei Möglichkeiten in Betracht.

Bei der ersten, einer rein fototechnischen, ist der Grundgedanke der, daß die Helligkeit der fotografierten Fluoreszenz - gleiche Belichtungszeiten vorausgesetzt - proportional der jeweiligen Fluoreszeinkonzentration ist, bzw. daß sie sich bei bekanntem Belichtungszeitenverhältnis errechnen läßt. Von den Farbdiapositiven werden Schwarzweißnegative kopiert und so die Helligkeit der Fluoreszenz proportional in Filmschwärzung umgesetzt. Mit einem Fernsehbilddensitometer (Quantimet 720 D mit Epidiaskop, Imanco Ltd., CAMBRIDGE Instrument Company, Dortmund) können dann die Grauwerte gemessen und mit entsprechend gewonnennen Werten einer Standardverdünnungsreihe verglichen werden.

Beim zweiten Verfahren, zu dem ab Versuch Nr.39 Vorversuche unternommen wurden, mußten von dem im Kryotom befindlichen Präparat Proben aus den Flüssigkeitsräumen in Form kleiner Eisbröckchen entnommen werden. Dies geschah unter Mikroskopischer Kontrolle mit Hilfe einiger in der Mikrochirurgie gebräuchlicher Instrumente. Eine mit einer Kocherklemme gehaltene Skalpellklinge diente dabei als

"Tablett" , auf dem die Proben nach Herausbrechen aus dem Präparat geborgen wurden. Großvolumige Räume wie das Vestibulum oder die Basalwindungen der Cochleae bereiteten kaum Schwierigkeiten, die Probenentnahmen aus den oberen Windungen waren jedoch problematisch, zumal wegen räumlicher Enge an der Öffnung des Kryotoms mit den Händen nicht näher als etwa zehn Zentimeter an das Objekt heranzukommen war.

Auch die Gewinnung ausreichender Mengen Lymphe war bei den oberen Windungen schwierig und gelang nicht immer. Die besten Ergebnisse konnten erwartet werden, wenn zunächst das Präparat bis in die Ebene der Modiolusachsen geschnitten und dann, nach Fotografie, der Modiolus mit Lamina spiralis ossea und Ganglion spirale radikal entfernt wurden. Die Scalen lagen dann gut zugänglich in Form übereinandergestapelter Halbringe frei und konnten ausgeräumt werden. Die Endo- und Perilymphe trennende Reissnersche Membran wirkte als Sollbruchstelle, sodaß von einer relativ hohen Reinheit der Proben ausgegangen werden darf.

Wenn man die Skalpellklinge mit dem daraufliegenden Probebröckchen aus dem Kryotom nahm, schmolz dieses sofort. Man konnte dann mit Hilfe eigens dafür hergestellter Kapillaren davon Teilmengen in der Größenordnung von 0,1 Mikroliter aufnehmen und auf einen Celluloseacetatstreifen (Boscamp Celluloseacetatfolien MTB, Instrumentation Laboratory, Schmal BOSCAMP, Kleinstraße 14, Hersel) tupfen. Die absolute Menge dieser Teilproben spielte keine Rolle. Wichtig war nur, daß alle Proben und die nach dem selben

Verfahren auf die Folie aufgebrachten Tüpfel von Fluoreszeinlösungen einer Standardverdünnungsreihe untereinander gleich waren.

Die kleinsten zur Verfügung stehenden Einmalkapillaren waren circa 33 Millimeter lang und faßten 1,0 Mikroliter, also das Zehnfache der hier erforderlichen Menge (Microcaps, Disposable micro-pipettes, DRUMMOND Scientific Company, USA; zu beziehen bei Georg Kästner, Labor- und Umwelttechnik, Tübingen). Anfangs wurde versucht, diese bei einem Zehntel ihrer Länge mit einem feinen, wasserfesten Filzstift unter dem Mikroskop mit Hilfe eines Minitoolmaßstabs (5 Millimeter, in 0,1-Millimeterschritte unterteilt) einzeln zu markieren. Dieses Verfahren war viel zu ungenau und zeitraubend, was schließlich zur Entwicklung eines Hilfsmittels führte, mit dem dies schneller und präzise möglich war. Das Gerät (siehe Anhang, Abb.6) ist aus Vierkantstahl, einigen Schrauben und einem Holzklötzchen sehr einfach aufgebaut. Es besteht aus einem Unterteil mit hölzener Kapillarenauflage und einem längs verschiebbaren Oberteil mit Feineinstellung, das gleichzeitig die Kapillaren festhält und als Anschlaglineal dient. Bis zu 28 Stück konnten nebeneinander eingelegt und innerhalb von Sekunden mit höchster Genauigkeit markiert werden.

Die nächste Schwierigkeit war die, die nun sehr genau markierten Kapillaren ebenso genau bis zur Marke zu füllen, was auch mit einer Mikrohandbürette nicht befriedigend gelang. Deshalb wurde dazu übergegangen, die Kapillaren nicht mit einem Strich zu markieren, sondern an der glei-

chen Stelle mit einer Ampullensäge zu ritzen und etwa 3,5 Millimeter lange Stücke abzubrechen. Diese mußten dann nachselektiert werden, da das Abbrechen mit größeren Ungenauigkeiten verbunden war, als das Markieren. Die Handhabung dieser winzigen 0,1-Mikroliterkapillaren bereitete bei Verwendung einer spitzen Pinzette keine Probleme.
Das Prinzip der Auswertung bestand darin, die Probentüpfel durch Nebeneinanderhalten mit den Tüpfeln der Standardverdünnungsreihe zu vergleichen. Außerdem konnten von den Proben- und Referenztüpfeln Schwarzweißfotos bzw. Negative im Fernsehbilddensitometer analog der erstgenannten Methode ausgemessen und verglichen werden.

3. Ergebnisse

3.1 Leerwerte

Bereits bei den Tieren, die keinen Marker erhalten haben, fluoresziert die Perilymphe in allen Kompartimenten leicht. Dies äußert sich in einer schwachen, gelbbräunlichen Trübung, die sich in ihrer Farbe von der gelbgrünen Fluoreszenz der Perilymphe markierter Tiere eindeutig unterscheidet. Die Endolymphe zeigt sich vollkommen klar; man könnte ihren Anblick mit dem von Wasser vergleichen, das eine Spur Kaffee enthält. Die Perilymphe erscheint, um bei dem Vergleich zu bleiben, als enthielte sie einen

Schuß Milch.
Am Cochleaquerschnitt fällt die mediale Schnittfläche der Basalwindung auf. Ihre Betrachtung erweckt den Eindruck großer räumlicher Tiefe.
Die oben beschriebene Trübung der Perilymphe ist im Vestibulum nicht gleichmäßig verteilt, sondern fällt in ihrer Intensität von nasal nach occipital deutlich ab.
Die Dura, der ihr anliegende Teil der Schädelkapsel und die knöcherne Wand des Modiolus fluoreszieren grünlich. Der Farbton ähnelt dem des Fluoreszeins, seine Intensität ist jedoch sehr gering. Die Eigenfluoreszenz der restlichen Schädelknochen und der knöchernen Cochlea zeigt eine intensiv braungelbe Färbung.

3.2 Fluoreszeinversuche

3.2.1 Extracochleäre Strukturen

Bei den farbstoffbehandelten Tieren zeigt sich hier nahezu der gleiche Befund in allen Zeitstufen.
Am intensivsten fluoresziert die Dura in ihrem gesamten Umfang und durch alle Schnittebenen hindurch. Die Arachnoidea zwischen Kleinhirn und Medulla oblongata sowie die Wände von Gefäßen, die teils im Parenchym des ZNS liegen, teils frei durch den Liquorraum ziehen bzw. als knäulförmige Plexus im Kleinhirnbrückenwinkel liegen, fluoreszie-

ren ebenfalls sehr stark. Freie, nicht an Gefäße gebundene Fluoreszenz im Liquorraum kommt nur bei einem Teil der Versuchstiere in der zentralen Zisterne und dem Spalt zwischen Medulla und Cerebellum vor, nie jedoch im peripheren Liquor, also auch nicht in der Umgebung der medialen Aquaeductmündung (Trichter).

In der Medulla oblongata und dem Kleinhirn tritt nur sehr schwache Fluoreszenz auf. Auch der Nervus vestibulocochlearis zeigt in seinem Inneren keine Fluoreszenz, ist jedoch von seinem Ursprung bis zum Fundus des Meatus acusticus internus von meist starker Fluoreszenz umgeben.

Der Nervus facialis hingegen fluoresziert vor allem in seinen peripheren Anteilen wesentlich stärker; er erreicht dort nahezu die Intensität der Dura.

Das helle Leuchten der harten Hirnhaut setzt sich mit fast unverminderter Stärke in die Wand des Aquaeductus cochleae fort. Auf halber Strecke kann man auch in seinem Lumen mittlere bis starke Fluoreszenz beobachten, die sich nach lateral verdichtet und in einem gegen die Perilymphe der basalen Scala tympani scharf begrenzten Ausläufer in die Membran des Runden Fensters übergeht.

In nahezu gleicher Intensität flüoreszieren alle Bindegewebsstrukturen, wie Stapediussehne, Gelenkknorpel des Atlantooccipitalgelenks, Periost und vor allem das Mucoperiost der gesamten Bulla tympanica. Die Gefäße der Cochleaoberfläche sind von einem schmalen, gelbgrün leuchtenden Saum umgeben. Die zwischen ihnen liegende Schleimhaut fluoresziert deutlich schwächer als die übrige Bullaausklei-

dung und ist nur etwa halb so dick wie diese.
Die Fluoreszenzstärke der vestibulären Perilymphe ist bei kurzer Experimentdauer gering und steigert sich in den letzten Gruppen bis etwa mittelstark. Dabei zeigt sich der bereits bei den Leerwerten vorhandene, von nasal nach occipital abnehmende Gradient. In Höhe des Hinterrandes der Stapesfußplatte endet die trübe Färbung relativ abrupt, jedoch ohne scharfe Begrenzung im Sinne einer trennenden Membran, wie sie zwischen Vestibulum und Sacculus zu finden ist.
Wegen dieser Membran, dem Gradienten im Vestibulum und der stärkeren, homogen verteilten Fluoreszenz der Endolymphe im Sacculus läßt sich dieser, besonders in seinem occipitalen Anteil leicht abgrenzen.
Ductus und Saccus endolymphaticus zeigen schon bei 15 Minuten Versuchsdauer intensivste Fluoreszenz ihrer Wände vom Sinus sigmoideus bis fast an den Sacculus heran. Die Endolymphe im Saccus endolymphaticus fluoresziert wesentlich stärker als die des Sacculus.
Als letzte, sich während des gesamten Beobachtungszeitraums kaum verändernde Struktur sei das Bogengangsystem genannt. Die Perilymphe ist wie bei den Leerwerten trüb, jedoch schwach grün tingiert. Die Endolymphe des häutigen Systems hebt sich klar und nahezu unverfärbt davon ab.

3.2.2 Cochlea

Größere Veränderungen der Fluoreszenz bezüglich Stärke und Ausbreitung spielen sich in der Cochlea ab. In der Scala tympani der Basalwindung unter dem Runden Fenster ist von Anfang an starke Fluoreszenz zu sehen. Sie setzt sich zusammen aus dem bereits oben beschriebenen Aquaeductausläufer, der in die Membran des Runden Fensters übergeht, und aus der Fluoreszenz der Perilymphe selbst. Letztere breitet sich mit zunehmender Versuchsdauer entlang der Scala tympani apikalwärts aus, erreicht aber selbst nach 150 Minuten in der medialen Schnittfläche der Basalwindung nur mittlere Stärkegrade. Die Perilymphe der basalen Scala vestibuli fluoresziert von Anfang an schwächer als die der zugehörigen Scala tympani. Die Ausbreitungsrichtung der Fluoreszenzfront ist in beiden Scalen gleich, "hinkt" in der Scala vestibuli aber immer hinterher.
Der Ductus cochlearis fluoresziert bei Kurzzeitversuchen in der Basalwindung vor allem medial deutlich stärker als die Perilymphscalen. Ab etwa 30 Minuten Versuchsdauer übertrifft die Perilymphe die Endolymphe in allen Windungen deutlich.
Bereits nach 15 Minuten in der vierten Windung sichtbar, und mit zunehmender Versuchsdauer nach basal fortschreitend, beginnen die Perilymphscalen von der Spitze her zu fluoreszieren. Nach 30 bis 45 Minuten fluoreszieren die beiden oberen Windungen, nach 60 Minuten die oberen zweieinhalb und nach 90 Minuten die oberen drei. Dabei bleibt

immer ein von apikal nach basal abnehmender Gradient bestehen und die Scala vestibuli schwächer oder höchstens gleichstark wie die Scala tympani der gleichen Windung. Die Scala tympani der zweiten Windung zeigte von Anfang an stärkere Färbung als die ihr anliegenden Nachbarscalen. Sie fällt in den Schnittebenen vor dem Modiolus als helles Band auf, denn auch zu beiden Seiten, wo man in die Tiefe des Perilymphraums blickt, ist sie deutlich fluoreszent. In der Ebene der Schneckenachse wird dann nochmals sichtbar, daß die Perilymphe und nicht durchscheinendes Endost des Modiolus Ursache dieser Erscheinung ist. Selbst nach 120 bis 135 Minuten Versuchsdauer, wenn die von der Schneckenspitze kommende Fluoreszenzfronz die zweite Windung erreicht hat, hebt sich deren Scala tympani durch auffallend starke Fluoreszenz noch deutlich von den Nachbarscalen ab. Das von Anfang an bestehende Fluoreszenzminimum der medialen Schnittfläche der Basalwindung bleibt bis zuletzt bestehen und trennt die Anreicherung der Scala tympani der ersten und zweiten Windung voneinander.
Das Ligamentum spirale verhält sich bezüglich Ausbreitung und Stärke der Fluoreszenz wie die Perilymphscalen der jeweiligen Windung. Es ist folglich von diesen nur schwer, von der wesentlich weniger gefärbten, oft sogar fast klaren Endolymphe jedoch leicht abzugrenzen. An einigen Schnecken, die nicht in die Auswertung miteinbezogen wurden, verlaufen mehr oder weniger breite, meist blutgefüllte Frakturlinien durch das Präparat. An anderen kam es trotz zweizeitigen Einfrierens zu Blutungen in die Sca-

len. All diesen Fällen ist gemeinsam, daß das Ligamentum spirale, wenn es auf diese Weise mit Blut in Berührung gekommen ist, sehr viel stärker fluoresziert als bei intakt gebliebenen Vergleichspräparaten.

Im Modiolus, genauer gesagt im Winkel zwischen Spiralganglion, Nervus acusticus und knöcherner Wand der Scala vestibuli verläuft die Arteria spiralis modioli von basal nach apikal. Im unteren Drittel der Basalwindung anastomosiert sie mit dem Ramus cochlearis der Arteria vestibulocochlearis. Am Cochlealängsschnitt zeigt sie sich im lateralen Teil der Modiolusbasis als kräftiger Plexus in allen Präparaten etwa gleich stark. Im weiteren Verlauf apikalwärts ist ihr Durchmesser größeren interindividuellen Schwankungen unterworfen. Das basale Gefäßknäul ist zu allen Versuchszeiten von auffallend starker Fluoreszenz umgeben. In Höhe der zweiten und dritten Windung variieren deren Ausbreitung und Intensität wie die Gefäßstärke, jedoch unabhängig von dieser. Es besteht auch kein Zusammenhang mit der Versuchsdauer und der Fluoreszenzverteilung in den anliegenden Scalen. In Höhe der vierten Windung tritt im Modiolus niemals perivasale oder perineurale Fluoreszenz auf.

4. Diskussion

4.1 Interpretation der eigenen Ergebnisse

4.1.1 Leerwerte

Die Untersuchung farbstoffunbehandelter Tiere erwies sich als sinnvoll und nützlich, denn erst dies ermöglichte die Unterscheidung der durch das Fluoreszein hervorgerufenen Anfärbungen von unspezifischer Eigenfluoreszenz anatomischer Strukturen, sowie die Beurteilung des Resorptionsgrades bei den Tieren der ersten Serie, die den Marker intraperitoneal erhalten hätten.

Die im Vergleich zur Endolymphe vermehrte Eigenfluoreszenz der Perilymphe in Form der oben beschriebenen Trübung, vor allem im Bereich der Bogengänge, kann dort durch das feine Maschenwerk im Spatium perilymphaticum zwanglos erklärt werden. Anders verhält es sich im Vestibulum und den cochleären Perilymphscalen, da diese kein solches Maschenwerk enthalten. Hier müssen gelöste Stoffe, eventuell kolloidale Eiweiße, Ursache der unspezifischen Fluoreszenz sein. Diese Erklärung steht in Einklang mit dem Befund, daß der Liquor cerebrospinalis, der einen wesentlich geringeren Eiweißgehalt als die Perilymphe aufweist, wasserklar erschien.

Der auffallende Eindruck großer räumlicher Tiefe, den die

medial gelegene Schnittfläche der cochleären Basalwindung hervorrief, wurde zunächst als Folge des schrägen Einfalls des Erregerlichts angesehen (das Ende des Glasfaserlichtleiters der UV-Lampe befand sich links oberhalb des Mikroskopobjektivs, weil koaxialer Beleuchtungs- und Beobachtungsstrahlengang nur für die Normallichtlampe realisierbar war). Im Falle des Zutreffens dieser Theorie hätten jedoch in der Cochlea der einen Seite die medialen, auf der anderen Seite die lateralen Schnittflächen aller Scalen so wirken müssen, was nicht der Fall war.
Eine weitere mögliche Erklärung, die Basalwindung der zur Hälfte geschnittenen Cochlea stelle in der senkrecht zur Schnittebene liegenden Richtung tatsächlich das räumlich tiefste Kompartiment dar, trifft ebenfalls nicht zu. Aus den Angaben von HAUG und GIEBEL (1978) über die Abstände der Schnittebenen einzelner Labyrinthstrukturen geht hervor, daß das Vestibulum räumlich tiefer ist als die Basalwindung des Cochlearestes. So bleibt die Ursache dieses Phänomens ungeklärt.

4.1.2 Fluoreszeinversuche

Die außerordentlich helle Fluoreszenz bindegewebiger Strukturen wie Dura, Gefäßwände, Mucoperiost und Gelenkknorpel läßt auf starke Affinität des verwendeten Markers zu einem oder mehreren ihrer Bestandteile wie kollagene oder elastische Fasern bzw. Interzellularsubstanz schlie-

ßen. Sie kann nicht Zeichen einer besonders guten Durchblutung oder intensiven Stoffwechsels sein, da es sich hierbei um bradytrophe Gewebe handelt.

Die Permeabilität der Blut-Liquorschranke für Fluoreszein scheint nicht im gesamten Liquorraum gleich zu sein. Der Liquor in der Zirkumferenz der Kleinhirn- und Medullaschnittfläche war stets frei von Fluoreszein, wobei die Wände von Gefäßen, die durch den Liquorraum zogen, stark fluoreszierten.

In den Kleinhirnbrückenwinkeln waren regelmäßig dichte Gefäßknäuel zu sehen, die ein stark fluoreszentes Bild boten. Dabei entstand der Eindruck, daß sich diese Fluoreszenz gegen den umgebenden Liquorraum scharf abgrenzte, fast als ob sie von einer trennenden Membran umgeben wäre. Es läßt sich nicht entscheiden, ob es sich hierbei um die Fluoreszenz der dichtgepackten Gefäßwände handelte, oder ob der Liquor cerebrospinalis an dieser Stelle freies Fluoreszein enthielt.

Ähnlich lagen die Verhältnisse in dem Spalt zwischen Cerebellum und Medulla oblongata, sowie in der zentralen Zisterne. Die hier regelmäßig vorhandene Fluoreszenz könnte sowohl auf freies Fluoreszein hinweisen, als auch auf einer starken Anfärbung der Arachnoidea beruhen. Nur bei einigen Versuchstieren zeigte sich in der Cisterna cerebellomedullaris starke spezifische Fluoreszenz, ohne daß ein Gefäßplexus zu sehen war. Der freie Übertritt des Markers in den Liquor läßt sich also zumindest an dieser Stelle nicht sicher ausschließen.

Das anatomische Substrat der schwachen Fluoreszenz in der Schnittfläche von Medulla oblongata und Cerebellum stellen wahrscheinlich die dortigen Kapillarwände, d.h. Zellen oder die Basalmembran der Blut-Hirnschranke dar. Das neurale Parenchym kommt hierfür nicht in Betracht, da es sonst infolge seines intensiven Stoffwechsels und der guten Durchblutung die oben genannten Bindegewebsstrukturen weit hätte übertreffen müssen. Dies stellt einen Hinweis auf die Impermeabilität der Blut-Hirnschranke für den verwendeten Marker dar, was in seiner Applikationsform als wasserlösliches Salz, d.h. als zumindest teilpolares Molekül begründet sein mag. Er unterlag somit den gleichen Bedingungen wie Pharmaka, die geladene Gruppen tragen, und folgedessen nicht in das ZNS eindringen können.
Der Nervus facialis scheint eine Ausnahme zu machen, da sein Querschnitt im peripheren Verlauf starke, nach zentralwärts abnehmende Fluoreszenz zeigte. Es ist jedoch zu bedenken, daß er bei der operativen Eröffnung der Bulla tympanica zur Vermeidung von Zerrungen und der damit verbundenen Liquordruckschwankungen durchtrennt und damit eröffnet wurde. Möglicherweise konnte so das durch die systemische Verabreichung in allen Gefäßen befindliche und mit dem Blut in die Operationswunde geschwemmte Fluoreszein zwischen den Nervenfasern oder entlang der Markscheiden in den Nerven eindringen. Denkbar wäre auch, daß das Perineurium des Nervus facialis in seinem proximalen Anteil der für Fluoreszein impermeablen Blut-Hirnschranke gleicht und im weiteren Verlauf die Permeabilitätseigen-

schaften der Schwannschen Scheiden peripherer Nerven annimmt. Genauere Informationen über den Transportweg des Fluoreszeins im Nervus facialis und über sein Verhalten gegenüber der Blut-Hirnschranke könnten fluoreszenzmikroskopische Untersuchen histologischer Präparate erbringen.

Im Aquaeductus cochleae entsprach die Fluoreszenzverteilung dem Verlauf des Ductus membranaceus. An der medialen Mündung (Trichter) begann sie randständig als Fortsetzung der Dura und der Arachnoidea, die wegen des engen Kontaktes und der geringen Vergrößerung nicht voneinander abzugrenzen waren. Im weiteren Verlauf lateralwärts, wo der Arachnoideaschlauch zum lockeren Maschenwerk wird und den Aquaeduct ausfüllt, zeigte sich auch im Lumen Fluoreszenz. Der nahtlose Übergang des gegen die Scala tympani scharf begrenzten Ausläufers in die Membran des Runden Fensters und das Mucoperiost weist auf Verbindungswege zwischen Mittel- und Innenohr hin.
Schwächer als die oben genannten Strukturen fluoreszierte die Perilymphe der Scala tympani unter dem Runden Fenster, doch übertraf sie deutlich die Perilymphe der zugehörigen Scala vestibuli. Insgesamt gesehen entstand der Eindruck einer vom Runden Fenster ausgehenden Fluoreszenzfront, deren Ausbreitungsrichtung und -geschwindigkeit durch die folgend dargestellte Theorie zwanglos erklärt werden können: Von der stark fluoreszenten Mittelohrschleimhaut ausgehend könnte der Marker durch die Runde-Fenster-Membran hindurch in die Scala tympani hineindiffundiert sein. Die

weitere Ausbreitung entsprechend der herrschenden Konzentrationsgradienten wäre dann in der Scala tympani langsam apikalwärts, über das Ligamentum spirale in die Scala vestibuli und im Aquaeductus cochleae proximalwärts erfolgt, wobei sich die Zellen des Aquaeductalen Maschenwerks wegen der hohen Affinität stark anfärbten. Dies wäre im Falle einer cochleopetalen Gegenströmung nicht möglich gewesen, da der Liquor cerebrospinalis im Aquaeducttrichter stets klar, und kein Fluoreszein zu sehen war. Andererseits kann aus dem selben Grund die Anfärbung des Fibrocytennetzes nicht von proximal her erfolgt sein, sodaß eine cochleopetale Liquorströmung im Aquaeductus cochleae mit großer Wahrscheinlichkeit auszuschließen ist.

Auch die in der vierten Windung beginnende und sich relativ rasch basalwärts ausbreitende Fluoreszenzfront wurde wahrscheinlich durch Diffusion vom Mucoperiost der Cochleaoberfläche aus gespeist. Die geringe Dicke der knöchernen Cochleaschale, vor allem im Apexbereich, könnte dies ermöglicht haben. Als Ursache der geringeren Intensität in der Scala vestibuli kommt deren kleinere Kontaktfläche zur Außenwand in Betracht. Die scheinbar größere Ausbreitungsgeschwindigkeit der apikalen Fluoreszenzfront im Vergleich zu der Fluoreszenzfront in der Basalwindung kann als Folge der insgesamt größeren Kontaktfläche zum Quellgebiet und der geringeren Querschnittsfläche der erstgenannten betrachtet werden.

Die Theorie des Abwanderns des Fluoreszeins von der Cochleaoberfläche in die Scalen hinein findet Unterstützung in

der Tatsache, daß das Mucoperiost auf der Schnecke zwischen den Gefäßen weniger stark fluoreszierte als die übrige Bullaauskleidung. Der helle Fluoreszenzsaum der Gefäße deutet darauf hin, daß der gefundene Unterschied nicht durch geringeren Antransport bedingt war.
Das frühe und starke Auftreten von Fluoreszenz in der Scala tympani der zweiten Windung kann nicht durch Diffusion von außen her verursacht worden sein, da hier weder eine dem Runden Fenster vergleichbare Struktur liegt, noch der Knochen besonders dünn ist. So kommt nur der Antransport auf dem Gefäßweg in Betracht. Möglicherweise besteht ein Zusammenhang mit der im basalen Teil des Modiolus stets kräftig ausgeprägten perivasalen Fluoreszenz, oder aber diese stellt einen vierten Zugangsweg zur Schnecke dar, und die Anfärbung der Scala tympani der zweiten Windung geht von den Kapillaren ihrer Außenwand aus. Das Auftrten der modiolären Fluoreszenz vor der in der Scala spricht für die erste der hier genannten Möglichkeiten, die eindeutig geringere Fluoreszenz anderer, diesem Gefäßplexus ebenfalls eng benachbart liegender Scalenteile der zweiten Halbwindung (mediale Schnittfläche der Basalwindung) spricht dagegen.
Wie dem auch sei, der Eindruck bleibt bestehen, daß die Blut-Perilymphschranke im basalen Teil der Cochlea andere Eigenschaften aufweist als in den oberen Windungen, da die perineurale und perivasale Fluoreszenz vor allem in den oberen Modiolusanteilen vollkommen unabhängig von der Anfärbung der dortigen Scalen verteilt war. Dies spricht

auch gegen eine freie Kommunikation zwischen Perilymphe und Liquor cerebrospinalis via perineuraler Lymphspalten im Modiolus.

Die entgegengesetzte Ausbreitungsrichtung der basalen und apikalen Fluoreszenzfront, die möglicherweise größere Geschwindigkeit der letzteren und das Ausbleiben stärkerer Anfärbung der zweiten Halbwindung, sowohl von basal als auch von apikal her, lassen zusammen mit den obigen Überlegungen bezüglich des Aquaeducts den Schluß zu, daß die Perilymphe in beiden Scalen keine, oder allenfalls eine minimale basalwärts gerichtete Strömung aufweist. Daraus folgt, daß sie in den Scalen selbst entsteht und möglicherweise radiäre Austauschvorgänge stattfinden.

Das Fluoreszenzverhalten des Ligamentum spirale glich weitgehend dem der Perilymphscalen, am ehesten der Scala vestibuli. Wegen des deutlichen Unterschiedes zum Ductus cochlearis muß es als gegen die Endolymphe abgeschlossen und dem Perilymphsystem zugehörig betrachtet werden. Wegen der ubiquitären Anwesenheit des systemisch applizierten Markers kann nicht entschieden werden, ob die Anfärbung des Ligaments Folge von Ultrafiltration aus den in ihm verlaufenden Gefäßen, von Resorption aus den Perilymphscalen oder der Eindiffusion des Fluoreszeins von der Cochleaoberfläche her darstellt. Der den Scalen ähnliche, von apikal nach basal abnehmende Gradient wäre mit allen drei Möglichkeiten vereinbar.

Die Verteilung des Fluoreszeins im Endolymphraum läßt sich kurz zusammengefaßt so charakterisieren: Vom Ductus coch-

learis über den Sacculus zum Saccus endolymphaticus bestand ein aufsteigender Gradient. Die Wand des Saccus endolymphaticus übertraf deutlich dessen Inhalt, der mittlere bis starke Fluoreszenzgrade erreichte; die Endolymphe der Bogengänge blieb weitgehend frei von Fluoreszein. Diesem Verteilungsbild könnten unterschiedliche Permeabilitätsgrade der Blut-Endolymphschranke in den verschiedenen Abschnitten des häutigen Labyrinths zugrunde liegen, außerdem scheint die Perilymph-Endolymphschranke für Fluoreszein unpassierbar. Denkbar ist auch, daß die Endolymphe in der Cochlea gebildet wird, oder zumindest einen Zustrom von Wasser und niedermolekularen Substanzen erfährt, rasch basalwärts abfließt, über den Sacculus den Saccus endolymphaticus erreicht und dort in den Liquor cerebrospinalis oder Sinus sigmoideus aufgenommen wird. Bis zu welcher Stärke eine solche Strömung mit der Funktion des Gleichgewichtsorgans vereinbar wäre, kann hier nicht beantwortet werden. Grundsätzliche Unvereinbarkeit scheint jedoch nicht vorzuliegen, denn die Bogengänge würden außerhalb des Strömungsgebietes liegen, und im Sacculus durch die Querschnittszunahme eine Strömungsverlangsamung eintreten, sodaß auch hier trotz relativ rascher Strömung im Ductus reuniens und Ductus endolymphaticus die Funktion der Macula sacculi unbeeinträchtigt bliebe. Die Fluoreszenzarmut des Ductus cochlearis wäre dann durch den raschen Abfluß bedingt, und die Anreicherung in Sacculus und Saccus endolymphaticus die Folgen der Strömungsverlangsamung. Die starke Anfärbung der Wand des Saccus endolymphaticus könnte durch seine

Funktion als Resorptionsorgan bedingt sein, oder aus den in ihr liegenden Gefäßen stammen, wie die helle Fluoreszenz der übrigen Bindegewebsstrukturen auch. Letzeres wäre von der Endolymphe unabhängig; möglicherweise überlagern sich beide Mechanismen.

In den vorliegend beschriebenen Experimenten wurde versucht, durch geeignete Applikations- und Detektionsmethoden die physiologischen Verhältnisse im Innenohr möglichst wenig zu verändern, um so möglichst gültige Aussagen über die Strömungsverhältnisse im Labyrinth treffen zu können, was bezüglich der Druck- und Volumenverhältnisse mit großer Wahrscheinlichkeit gelungen ist. Der gewählte Zugangsweg gestattete die Untersuchung des gesamten Innenohres unter Wahrung der natürlichen Lage der anatomischen Strukturen und Flüssigkeiten zueinander. Wegen des ubiquitären Vorhandenseins des Markers bei systemischer Verabreichung und seiner Fähigkeit, Gewebsschranken durch Diffusion zu überwinden, war es nicht möglich, Ort und Ausmaß von Sekretions- und Resorptionsvorgängen direkt darzustellen. Auf diese Parameter kann aus den vorliegenden Ergebnissen nur mittelbar geschlossen werden. Die so gewonnenen Aussagen sollen jedoch nicht für sich alleine stehen, sondern erst im Vergleich mit den Methoden und Resultaten anderer Untersuchungen ihre Aufgabe, unsere Kenntnisse über die Physiologie des Innenohres zu erweitern, erfüllen.

4.2 Vergleich mit anderen Autoren

Die von GRAF und PORETTI (1950) beschriebene große Streuung des Resorptionsgrades nach intraperitonealer Gabe von Fluoreszein wurde auch in den vorliegenden Experimenten beobachtet. Nach Umstellung auf subcutane Applikation resorbierten alle Versuchstiere nahezu gleichstark, womit dieses Problem ohne wesentliche Änderung des Grundkonzepts gelöst war.

Das außer von den oben genannten Autoren auch von GISSELSSON (1949), KLEY (1951) und APPLEBAUM (1982) beschriebene Passieren der Blut-Liquorschranke nach systemischer Applikation von Fluoreszein kann aufgrund der eigenen Ergebnisse nicht uneingeschränkt bestätigt werden.

Als Argument für ein Durchdringen der Blut-Liquorschranke mag die enorme Diffusionsfähigkeit des Fluoreszeins gelten, die anhand eines der Experimente von GRAF und PORETTI (1950) deutlich wird. Nach suboccipitaler Injektion einer geringen Menge 10%iger Natrium-Fluoreszeinlösung drang diese, wie von vielen Autoren beschrieben und bei diesem Vorgehen üblich, über den Aquaeductus cochleae in die Schnecke vor. Nach verschiedenen Zeitstufen wurde die Cochlea mit Trockeneis eingefroren und die Verteilung des Markers in den Scalen nach Entfernung der knöchernen Cochleateile untersucht. Zu ihrer Überraschung fanden die Autoren eine von der distalen Aquaeductmündung ausgehende, konzentrische Ausbreitung des Fluorochroms, nicht etwa entlang dem Windungsverlauf, sondern ohne jede Rücksicht auf Ge-

websschranken quer durch alle Scalen und mit zunehmender Versuchsdauer weiter nach apikal reichend. Obwohl GRAF und PORETTI dieses enorme Diffusionsvermögen auf die hohe angewandte Konzentration zurückführten, bezweifelten sie auf Grund dieses Experiments, daß Fluoreszein geeignet sei, Strömungen darzustellen und verwendeten bei weiteren Versuchen radioaktive Natriumtracer.

Da bei intravasaler Applikation, wie sie außer von GRAF und PORETTI (1950) in einem anderen Versuch dieser Reihe auch von JAKO et al.(1959) und den anderen oben genannten Autoren durchgeführt wurde, sofort hohe Blutspiegel und damit hohe Konzentrationsgradienten an der Blut-Liquorschranke entstehen, ist ein "Durchbrechen" in den Liquorraum denkbar, das bei subcutaner oder intraperitonealer Applikation nicht oder nicht in diesem Ausmaß erfolgen würde.

Auch an Veränderungen der physiologischen Druckverhältnisse als mögliche Ursache von Artefakten ist zu denken. Gemeint ist das Absinken des Venendruckes und des damit eng verbundenen Liquordruckes durch die Narkose oder experimentelle Maßnahmen. Das von ARNOLD (1972) beschriebene Verfahren der intrathekalen Markerapplikation zeigt, wie empfindlich der intrakranielle Druck auf Änderungen des Venendrucks reagiert, da bereits bei leichtem Druck auf das Abdomen des Versuchstieres Liquor in dem suboccipital eingeführten Röhrchen hochstieg. Umsomehr sind von so eingreifenden Maßnahmen wie der Durchtrennung der oberen Hohlvene und der Aorta (zur Vermeidung der Blutkontamination von

von Lymph- oder Liquorproben) erhebliche Störungen der fein ausbalancierten Druckverhältnisse zu erwarten, ebenso wie von der Dekapitation des Versuchstieres (zur Präparation), da hierbei der Liquorraum und die Halsgefäße breit eröffnet werden.

Wesentlich einheitlicher stellen sich die Verhältnisse an der Blut-Hirnschranke dar. Außer der hier vorliegenden sprechen auch Arbeiten auf dem Gebiet der Neuropathologie dafür, daß die Blut-Hirnschranke unter physiologischen Verhältnissen für Fluoreszein unpassierbar ist. KLATZO et al. (1962) applizierten fluoreszeinmarkierte Serumproteine und Fluoreszein-Isothiozyanatlösung Katzen intravenös zur Sichtbarmachung von experimentell erzeugten Schädigungen der Blut-Hirnschranke. In Kontrollversuchen ohne Trauma war der Marker niemals in das Parenchym eingedrungen, und so konnte anhand von Serienschnitten bei Auftreten von Fluorezenz im Marklager Ort und Ausmaß der Schrankenschädigung genau lokalisiert werden. Da bei bei Applikation von Fluoreszein dieses zu etwa 80% an Serumalbumin gebunden wird, sind diese Ergebnisse mit der hier vorliegenden Arbeit vergleichbar. Im übrigen interpretieren auch MAASS und STUPP (1974) die nur schwache Fluoreszenz in der Schnittfläche des ZNS nach intravenöser und intramuskulärer Gabe von Tetrazyklinlösung als Zeichen der Unpassierbarkeit der Blut-Hirnschranke.

Weil die Ausbreitung einer Substanz durch Diffusion langsamer vonstatten geht als durch Strömung, läßt sich als zweite Folgerung aus dem eingangs beschriebenen Experiment

von GRAF und PORETTI (1950) und aus den eigenen Ergebnissen trotz der stark ausgeprägten Diffusionsfähigkeit des Fluoreszeins eine Longitudinalbewegung der Perilymphe mit großer Sicherheit ausschließen. Im Falle einer in der Scala tympani apikalwärts gerichteten Strömung über das Helicotrema in die Scala vestibuli und dort basalwärts zum Vestibulum, wie sie von vielen Autoren beschrieben wurde, hätte sich das Fluoreszein nicht in beiden Perilymphscalen gleichweit und in die gleiche Richtung ausbreiten können. Die Strömung hätte es in der Scala tympani weiter zur Schneckenspitze treiben und im selben Maße in der Scala vestibuli davon wegführen müssen, was jedoch nicht der Fall war.

Die von GRAF und PORETTI (1950) beobachtete im Ductus cochlearis gleichweit wie in den Perilymphscalen reichende Ausbreitung des Fluoreszeins scheint dafür zu sprechen, daß die Perilymph-Endolymphschranke für das Fluorochrom permeabel ist und außerdem die Endolymphe ebenfalls stillsteht, also keine basalwärts gerichtete Strömung den Ductus cochlearis durch Abfluß in Richtung Sacculus und Saccus endolymphaticus klarspült. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und der von GISSELSSON (1949) lassen jedoch daran zweifeln, daß Fluoreszein von der Perilymphe in die Endolymphe gelangen kann. ARNOLD und VOSTEEN (1979) beschreiben in ihrer Veröffentlichung im Handbuch der HNO-Heilkunde den Endolymphraum als allseitig geschlossenen Flüssigkeitsraum, dessen Epithelzellen untereinander durch Zonulae occludentes verbunden sind und an keiner Stelle freie Kommu-

nikation des Lumens mit der Umgebung ermöglichen. Möglicherweise beobachteten GRAF und PORETTI garnicht die Endolymphe des Ductus cochlearis, sondern das Ligamentum spirale, das wegen fehlender Epithelbarrieren zum Perilymphraum gehört und damit auch den Übertritt des Fluoreszeins von der Scala tympani in die Scala vestibuli ohne Schwierigkeiten gestattete.

Ähnliche Bedenken müssen den Ergebnissen von APPLEBAUM (1982) entgegengebracht werden. Wegen der starken Fluoreszenzanreicherungen in Bindegewebsstrukturen (Dura, Mucoperiost, Gefäßwände), wie sie in der vorliegenden Arbeit regelmäßig gefunden wurden, scheint es unmöglich, den Fluoreszenzgrad der Perilymphe durch das Runde Fenster, den des Liquors durch die Membrana atlantooccipitalis und den des Blutes durch die Gefäßwand hindurch zu bestimmen. Der Blend- und Überstrahlungseffekt, den jeder Autofahrer vor allem von der kalten Jahreszeit her kennt, wenn Sonnen- oder Scheinwerferlicht auf die beschlagenen Scheiben fällt, läßt dies nicht zu. Dafür spricht auch, daß an den tiefgefrorenen Präparaten der eigenen Arbeit in quer oder tangential getroffenen Gefäßwänden immer Fluoreszenz zu sehen war, nie jedoch im Gefäßlumen, obwohl das Blut mit absoluter Sicherheit Fluoreszein enthielt. Möglicherweise unterdrückt der Blutfarbstoff die Strahlung.

Zu falscher Beurteilung der Perilymphe durch Beobachtung des Runden Fensters von außen, wie sie außer APPLEBAUM (1982) auch KLEY (1951), GISSELSSON (1949) und JAKO et al. (1959) durchführten, trug sicher auch der aus dem Aquae-

duct kommende Arachnoideaausläufer bei, der die Innenseite der Runde-Fenster-Membran größtenteils bedeckt. Vermutlich hätte APPLEBAUM die gleichen Ergebnisse erhalten, wenn er statt des Fluoreszenzverlaufs des Runden Fensters den des Mucoperiosts auf der Cochleaoberfläche gemessen hätte. Doch selbst wenn dem nicht so wäre, hätte er die Perilymphe nur an einer einzigen Stelle beobachtet und die übrigen Kompartimente des Labyrinths wie z.B. den Endolymphraum überhaupt nicht. Aus den eigenen Beobachtungen und den Experimenten vieler Autoren geht jedoch hervor, daß in verschiedenen Teilen des Perilymphraums sehr unterschiedliche Verhältnisse herrschen. Trotz des enormen apparativen Aufwandes und der bestechenden Exaktheit der Messungen kann er deshalb nichts über das Labyrinth als ganzes aussagen.

Im Gegensatz hierzu sind die vorliegend beschriebenen Experimente in ihren Auswertungsmethoden zum Teil mittelbar (an Diapositiven) und subjektiv (Fluoreszenzstärke nur anhand einer Schätzskala beurteilt) ohne "harte" wissenschaftliche Daten zu erbringen und zudem durch das Handicap belastet, daß die Kinetik der Fluoreszeinverteilung nicht an jedem einzelnen Tier über den gesamten Beobachtungszeitraum verfolgt werden konnte, sondern anhand von Einzelbeobachtungen verschiedener Stadien an verschiedenen Versuchstieren erfaßt werden mußte. Auf diese Problematik wiesen bereits GISSELSSON (1949) und ORSULAKOVA (1975) mit der Begründung hin, daß jedes Versuchstier auf die Narkose und die Operation anders reagieren und die Farbstoffver-

teilung aufgrund unterschiedlicher Kreislauf- und Resorptionsverhältnisse sehr schwanken kann. Trotzdem war es ohne weiteres möglich, mit der hier angewandten Methode Tendenzen qualitativ zu erfassen und zu objektivieren, ohne sich dabei bezüglich der Kinetik auf genaue Meßwerte festzulegen. Außerdem konnten alle Labyrinthstrukturen in ihrem natürlichen topografischen Zusammenhang direkt beobachtet werden, ohne daß Gefahr bestand, durch Schaffung unphysiologischer Druckverhältnisse artefizielle Strömungen zu provozieren.

Die bereits in der Einleitung geäußerten Bedenken bezüglich Eröffnung eines Kompartiments und intrathekaler oder intracochleärer Applikation von im Vergleich zum Zielkompartiment großen Flüssigkeitsmengen sollen hier nochmals aufgegriffen und anhand einiger Beispiele näher erläutert werden. Bei ARNOLD und VOSTEEN (1979) erschien die Abbildung einer Röntgenaufnahme. Sie zeigt den Kopf eines Meerschweinchens drei Minuten nach suboccipitaler Injektion von Thoriumdioxid, das sich von der (gekennzeichneten) Applikationsstelle etwa 1,5 Zentimeter weit nach nasal (bis zum Bulbus olfactorius), caudal und lateral ausgebreitet hat und über den Aquaeductus cochleae in die Scala tympani eingedrungen ist. Die daraus errechenbare Verteilungsgeschwindigkeit im Liquorraum beträgt etwa 300 Millimeter pro Stunde, was einer beträchtlichen Strömung entspräche, aber durchaus denkbar wäre. Die konzentrische Ausbreitung mit der Applikationsstelle als Mittelpunkt und die mit dem Abstand zunehmende Verdünnung beweisen jedoch, daß hier

nicht normale Strömungsverhältnisse dargestellt sind, sondern nur die Folgen des angewandten Injektionsdruckes, bzw. des Unterdruckes im Liquorraum, falls das von ARNOLD (1972) beschriebene Applikationsverfahren benutzt wurde. V. SVANE-KNUDSEN (1958) berichtet von ähnlich weiter Ausbreitung der suboccipital injizierten Eisensalzlösung (0,3 ml), die nach fünf bis 15 Minuten bis in die Scala tympani der dritten Windung, die Opticusscheide und in die Riechschleimhaut eingedrungen war.

Daß KLEY (1951) nach Entfernung der Runde-Fenster-Membran und Leersaugen der Scala tympani einen aus dem Aquaeduct kommenden Strom beobachten konnte, ist nicht verwunderlich. Durch die Eröffnung der Scala wurde diese druckentlastet, und durch den Wegfall der hydrostatischen Druckkomponente nach Entnahme der Perilymphe das durch suboccipitale Farbstoffinjektion ohnehin schon veränderte Druckverhältnis noch mehr zugunsten des Liquorraums verschoben, und die beobachtete Strömung provoziert oder zumindest verstärkt. Nach Auffüllen der entleerten Scala mit Farbstoff (ohne vorherige Suboccipitalinjektion) floß dieser nicht im Aquaeduct zentralwärts, was von KLEY als weiteres Indiz einer zentrifugalen Gegenströmung gewertet wurde. Es ist jedoch zu bedenken, daß die Scala nach wie vor offen war, und sich folgedessen die normalen Druckverhältnisse nicht aufbauen konnten.

Einen indirekten Hinweis dafür, daß im Falle eines durchgängigen Aquaeducts erst die Eröffnung des Perilymphraums zu einer nennenswerten cochleopetalen Strömung führt, fin-

det man bei RITTER et al.(1965), die erwachsenen Otosklerose- und Mènierepatienten zwei bis 60 Stunden vor der operativen Labyrintheröffnung (Verteilungsschwerpunkt bei 18 Stunden) zwei Milliliter Indigokarminlösung bzw. radiojodmarkiertes Albumin intralumbal applizierten und intraoperativ jeweils mehrere Perilymphproben aus dem Vestibulum entnahmen. Alle Proben waren frei von Testsubstanz. Als mögliche Ursache vermuteten die Autoren neben der Unpassierbarkeit des Aquaeducts eine zu rasche Elimination aus dem Liquor, widerlegten dies jedoch selbst durch erneute Lumbalpunktion, die bis zu 24 Stunden nach der Applikation positive Proben ergab. Ihre zweite Vermutung, die Zeit, in der das Vestibulum offen war, sei für die Perilymphe zu kurz gewesen, um den Weg von der basalen Scala tympani über das Helicotrema und die Scala vestibuli in das Vestibulum zurückzulegen, setzt implizit voraus, daß auch sie vermuteten, die Strömung käme unabhängig von der seit der Applikation verstrichenen Zeit erst durch die Labyrintheröffnung in Gang.

ANGELBORG (1973) äußerte nach suboccipitaler Applikation von 50 Mikroliter Thorotrast am Meerschweinchen und seiner Verteilungsanalyse anhand von Serienschnitten Bedenken dagegen, aus der Ausbreitung eines Markers im Extrazellulärraum auf physiologische Strömungen zu schließen. Die in Flüssigkeitsräume verabreichte Substanz könne durch Fixation, Dehydratation und Einbettung in beträchtlichem Maße verschleppt werden, und deshalb sei nur das Vorkommen in einer intakten Zelle aussagekräftig. In einer weiteren

Versuchsserie war Thorotrast auch nach postmortaler Gabe rasch in die Cochlea gelangt. Dort konnte bis zehn Minuten nach dem Tod des Versuchstieres Phagocytose einzelner Zellen nachgewiesen werden, womit auch das Erscheinen des Tracers innerhalb einer Zelle seine Beweiskraft dafür verlor, daß er durch physiologische Vorgänge in vivo dorthin gelangen konnte. Daraus und aus Kontrollversuchen mit Fixation in vivo, die die gleichen Verteilungsbilder zeigten, folgerte der Verfasser, daß die Ausbreitung der applizierten Substanz nur vom Applikationsmodus abhinge, und entsprechend vorsichtig sind seine Interpretationen im Bezug auf Flüssigkeitsbewegungen. Er spricht nur von der Existenz einer freien Verbindung zwischen Liquorraum und Perilymphraum und keineswegs von einer Strömung.
Beim Vergleich von Kurz- und Langzeitversuchen zeigt sich, daß nach einmaliger intrathekaler Injektion von Suspensionen (Kohlepartikel, Tusche, Erythrozyten) deren Verteilung im Innenohr bei einigen Experimenten nach Tagen und Wochen die gleiche war (SANDO et al.1971, JAMPOLSKI 1935) wie bei anderen Versuchen nach Sekunden (ARNOLD und v.ILBERG 1971, MEURMANN 1929, KARBOWSKI 1930, KOMMOS 1978). Die einzig mögliche Erklärung dafür ist die, daß nach rascher Ausbreitung durch den Injektionsdruck die Korpuskeln wie "Strandgut" liegen bleiben, weil physiologischerweise keine Strömung existiert, die für ihren Weitertransport stark genug wäre. Gegen diese Theorie spricht, daß bei JAKO et al.(1959) nach intralumbaler Injektion einer Fluoreszein-Tusche-Mischung erst nach 48 Stunden eine nennenswerte

Schwärzung der Runde-Fenster-Membran zu beobachten war, was sicher keine unmittelbare Folge des Injektionsdruckes im oben erwähnten Sinn darstellt. Dies läßt sich jedoch mit Sicherheit über das Verhalten des Fluoreszeins sagen, das bereits nach Sekunden hinter der Membran des Runden Fensters erschien.

Daß sich bezüglich Strömung im Aquaeductus cochleae und Innenohr ganz andere Befunde ergeben, wenn die Applikation und Detektion der Testsubstanz unter Beachtung der Empfindlichkeit des Systems gegenüber Druckschwankungen erfolgen, zeigen neben der vorliegenden auch die Arbeiten von KOMMOSS (1978), HAUG (1978) und KAUPP (1980). Diesen ist gemeinsam, daß bei Verabreichung und Analyse des Verteilungsraumes des Markers nahezu vollkommene Druckneutralität herrschte. Nach suboccipitaler Gabe von nur 0,1 Mikroliter Rhodaminlösung gelangte diese in vivo nicht in den Aquaeducttrichter, sondern floß an ihm vorbei. Bei postmortaler Applikation breitete sie sich durch Diffusion langsamer aus und drang über den Aquaeduct in die Cochlea vor. Verschiedene durch Diffusion bzw. Verwendung von nur 0,1 Mikroliter ebenfalls nahezu druckfrei in die basale Scala tympani eingebrachte Marker (Rhodaminlösung, Tetrazyklinlösung, fluoreszeinmarkierte Gammaglobuline) breiteten sich in der Basalwindung nur eine kurze Strecke apikalwärts aus, erreichten jedoch über den Aquaeduct schnell den Subarachnoidalraum. Alle diese Befunde zeigen in Einklang mit denen der vorliegenden Arbeit, daß im Aquaeductus cochleae mit allergrößter Wahrscheinlichkeit keine cochleopetale sondern eine coch-

leofugale Strömung herrscht. Dies setzt auch in der Scala tympani eine basalwärts gerichtete Strömung voraus, deren Geschwindigkeit wegen der viel größeren Querschnittsfläche entsprechend geringer sein muß, was mit den vorliegenden Ergebnissen ebenfalls übereinstimmt.

HAUG (1978) fand nach Füllen der gesamten Bulla tympanica mit Tetrazyklinlösung als Zugangsweg vom Mittel- zum Innenohr außer der Membran des Runden Fensters eine Diffusion durch die knöcherne Cochleaschale hindurch, vor allem im Bereich der Spitzenwindungen mit Ausbreitung des Markers in den Scalen basalwärts und homogener Anfärbung der ganzen Cochlea nach etwa einer Stunde. MAASS und STUPP (1974) beobachteten bei gleicher Applikations- und ähnlicher Detektionsart (Gefriertrocknung, Serienschnitte) jedoch nur den basalen Zugang durch das Runde Fenster mit longitudinaler Ausbreitung unter apikalwärts abnehmender Konzentration sowie transversaler Verteilung innerhalb jeder Windung. Die gleichmäßige Anfärbung der ganzen Cochlea unter Abschwächung der Gesamtintensität ergab sich erst nach 14 Stunden, obwohl die verwendete Tetrazyklinlösung fast die doppelte Konzentration hatte wie die von HAUG. Ein Vordringen in den Aquaeduct hinein erwähnen sie nicht, wohl aber die von vornherein gleichmäßige Ausbreitung des Tetrazyklins bei systemischer Verabreichung, und daß daraus keine Rückschlüsse auf Sekretions- und Resorptionsvorgänge gezogen werden können. Unsere Ergebnisse stimmen trotz systemischer Applikation und Verwendung eines anderen Markers mit denen von HAUG (1978) überein, bezüglich der Dif-

fusion durch das Runde Fenster und die Cochleaspitze, sowie zentripetaler Ausbreitung im Aquaeductus cochleae. Der Unterschied in der Kinetik (Durchfärbung der Schnecke erst nach 2,5 Stunden) läßt sich dadurch erklären, daß bei subcutaner Applikation nicht wie bei Füllung der gesamten Bulla tympanica dort sofort ein hochkonzentriertes Depot gesetzt, sondern das Fluoreszein, pharmakologisch gesprochen als "Retardpräparat" verabreicht wurde.
Weitere Hinweise auf Verbindungswege zwischen Mittelohrschleimhaut und Innenohr und damit auch zwischen Mittelohr und Subarachnoidalraum sind bei ARNOLD et al.(1972), ARNVIG (1951), GRAF und PORETTI (1950), JAMPOLSKI (1935), JAHNKE (1973) und KARBOWSKI (1930) zu finden, wobei Perineural- und Perivasalspalten sowie Knochenkanälcheb und Knochenmarksräume genannt werden. Die von JAHNKE (1973) geäußerte Befürchtung, die Eröffnung der Bulla tympanica könne wegen dieser Verbindungen einen Sog vom Liquorraum zum Perilymphraum hun auslösen, konnte von KOMMOSS (1978) widerlegt werden, da die laterale Ausbreitung von suboccipital applizierter Rhodaminlösung (0,1 Mikroliter) im Liquorraum in keinem Fall von der Eröffnung der ipsi- oder kontralateralen Bulla abhing. ARNVIG (1951) schrieb wegen dieser offenen Verbindungswege zwischen Mittelohr und Liqurraum dem Maschenwerk des Aquaeducts eine Filterfunktion zum Schutz des ZNS vor Keiminvasion vom Mittelohr her zu und stützt sich dabei auf WERNER (1940) und TANAKA (1930), die den Arachnoideaausläufer für einen Teil des Retikuloendothelialen Systems hielten.

Bei experimentell erzeugtem Hirndruck in Kurz- und Langzeitversuchen fand ARNVIG (1951) keinerlei Schädigung des Innenohres und schloß daraus, das Überdruck für das Labyrinth unschädlich sei. ANGELBORG (1973) hingegen untersuchte die Auswirkungen von Druckerniedrigung im Subarachnoidalraum auf die Verteilung von suboccipital appliziertem Thorotrast mittels oraler und intravenöser Gabe von Glycerol, teils vor, teils nach der Thorotrastgabe. Seine Hypothese, durch diese Maßnahme einen zumindest partiellen Rückfluß der Partikel von der Cochlea in den Liquor zu erzeugen bestätigte sich nicht; die Verteilung des Tracers war in allen Fällen gleich. Als Ursache für das Ausbleiben der erwarteten Wirkung diskutierte er die möglicherweise simultane Erniedrigung des Innenohrdrucks, oder aber, daß der Labyrinthdruck nicht unmittelbar vom Liquordruck abhängig sei.

MEURMANN (1929) fand bei Erhöhung des intrakraniellen Druckes mittels einer suboccipital angesetzten Injektionsspritze ein gleichsinniges, jedoch schwächer ausgeprägtes Mitreagieren des gleichzeitig hydrostatisch gemessenen Labyrinthdrucks, sowie dessen Rückkehr zum Ausgangswert bei Normalisierung des Liquordrucks. Durch Ziehen am Spritzenstempel im Subarachnoidalraum erzeugter Unterdruck pflanzte sich nicht in das Labyrinth fort, doch reagierte ein großer Teil der Versuchstiere auf diese Maßnahme mit Augendrehen und Nystagmus. Aufgrund dessen kam MEURMANN zu der Überzeugung, der Aquaeduct übe eine Ventilfunktion zum Schutz des Labyrinths vor schädlichem Unterdruck aus, wohingegen Über-

druck besser toleriert werde. Er verweist dabei auf GRAY (1907), nach dessen vergleichenden Studien tiere, die den Kopf hoch tragen (z.B. das Kamel), einen engen, solche, die ihn tief tragen (z.B. der Seehund), einen weiten Aquaeduct besäßen, und der als Extrembeispiel für die Unschädlichkeit von Überdruck die meist kopfunter hängende Fledermaus anführt, die einen weiten Aquaeduct hat. Auch die Ergebnisse von MEURMANNs eigenen Vermessungen an menschlichen Felsenbeinen verschiedener Altersstufen können, wenn man seinen Hinweis darauf miteinbezieht, daß beim Menschen im oberen Teil des Zerebrospinalraumes ein negativer hydrostatischer Druck herrschen kann, in diesem Sinne gesehen werden, denn zur Fetalzeit gleicht der menschliche Aquaeductus cochleae dem niederer Säugetiere und ist auch bei Kleinkindern noch häufig offen. Mit zunehmendem Alter und damit zunehmender Körpergröße wächst der Aqaeduct nur in die Länge, sein relativer Durchmesser verringert sich, und das Fibrocytennetz verdichtet sich bis zu der im Erwachsenenalter regelmäßig vorgefundenen Obliteration. RITTER et al.(1965) sahen aufgrund ihrer bereits oben genannten Untersuchungen die Undurchlässigkeit der Schnekkenwasserleitung beim Menschen bestätigt und ihre Funktion im Druckausgleich für den Perilymphraum bei Änderungen der Körperhaltung ("so wie es der Saccus endolymphaticus für die Endolymphe tut").

Eben diese Undurchlässigkeit des Aquaeducts bei Primaten war es, die viele Autoren an seiner tragenden Rolle bei der Perilymphgenese zweifeln ließ und zu den bereits in der

Literatursynopsis beschriebenen Verschlußexperimenten führte. Das Ausbleiben sowohl eines perilymphatischen Hydrops als auch des Versiegens der Perilymphe macht die Suche nach endolabyrinthären Produktions- und Resorptionsorten notwendig. Legt man die Theorie der Perilymphentstehung durch Ultrafiltration aus dem Blutserum zugrunde, so kommen hierfür nur reich vaskularisierte Gebiete in Betracht. Nach KOBURG und MAASS (1979) sind dies beim Meerschweinchen die Kapillargebiete der Lamina spiralis ossea, der Modioluswand und vor allem des Ligamentum spirale (suprastriales Netzwerk oberhalb der Reissnermembran, adstriales und poststriales Netzwerk = Kapillaren des eigentlichen Ligamentum spirale, der Stria vascularis und der Prominentia spiralis). Sie werden alle aus der Arteria spiralis modioli durch radiäre Äste versorgt und münden in die Vena spiralis modioli ein.

Die in den vorliegenden Experimenten beobachtete enge Beziehung zwischen dem Ligamentum spirale und den Perilymphräumen stimmt mit den Aussagen vieler Autoren überein. MAASS und STUPP (1974) berichteten vom Übertritt des Tetrazyklins aus der Scala tympani in die Scala vestibuli, aber auch in den Ductus cochlearis. RAUCH (1964) beschreibt ebenfalls eine Verbindung der beiden Scalen über das Ligamentum spirale und belegt dies mit dem Satz:"Versucht man übrigens beim Meerschweinchen, Endolymphe durch die Stria vascularis zu gewinnen, stößt man weitab von der Scala vestibuli oder Scala tympani auf Perilymphe im Ligamentum spirale." Ferner berichtet er, die Perilymphräume hätten

kein echtes Epithel, die Perilymphe sei demnach als interstitielle Flüssigkeit zu betrachten.
ARNVIG (1951) nannte das Ligamentum spirale Hauptresorptionsorgan für Perilymphe und Endolymphe und führte als Hauptargumente dessen reiche Vaskularisierung, den lockeren Aufbau und das Fehlen einer Epithelbarriere zu den Perilymphscalen an. Dies stimmt mit den Aussagen von SANDO et al.(1971) überein, die das Ligamentum spirale "perilymphatisches Gewebe" nannten und neben dem direkten Weg aus der Scala tympani einen Rückfluß der Perilymphe über das Spiralligament für möglich hielten, diesem also ebenfalls resorptive Funktionen zuschrieben. V. SVANE-KNUDSEN (1958) beobachtete nach suboccipitaler Gabe von Eisensalzlösung und deren bei diesem Vorgehen üblichem Eindringen in die Cochlea in der lateralen Wand der Scala tympani perivasal liegend Berliner-Blau-Granula und deutete dies ebenfalls als Zeichen von Resorption mit Abgabe von Flüssigkeit in tieferen Teilem des Ligamentum spirale als Reservoir für die Sekretionsfunktion des Striaepithels.
Auch bei GRAF und PORETTI (1950) finden sich Hinweise auf das Fehlen der Epithelschranke. Daraus und aus dem gleichzeitigen Erscheinen eines systemisch applizierten Tracers im Kammerwasser des Auges und in der Perilymphe folgerten sie, die Perilymphe werde wie das Kammerwasser durch Ultrafiltration aus den Gefäßen der Stria vascularis gebildet. KLEY (1951) erhielt das gleiche Ergebnis auch bei Tieren, deren Aquaeduct blockiert worden war.
JAHNKE (1973) fand eine erhöhte Durchlässigkeit des Liga-

mentum spirale oberhalb des Ansatzes der Reissnermembran, bezweifelte jedoch aufgrund der unterschiedlichen Konzentration intrathekal applizierter Peroxidase in der tympanalen und vestibulären Perilymphe sowohl die Existenz einer Querverbindung zwischen den Scalen, als auch einer Längsströmung bei intaktem Innenohr. Die unterschiedliche Zusammensetzung der Perilymphe in den beiden Scalen sei Folge unterschiedlicher Synthese- und Resorptionsleistungen der Gewebe in den einzelnen Labyrinthabschnitten, und die Ausbreitung der Peroxidase sei so langsam erfolgt, daß nicht zu entscheiden sei, ob eine Strömung oder konzentrationsabhängige Diffusion vorgelegen habe.

JAKO et al.(1959) hielten Perilymphentstehung aus dem Liquor cerebrospinalis und endolabyrinthär für möglich und führten die verschiedenen Bestandteile der Innenohrflüssigkeiten auf verschiedene Quellen zurück. RAUCH (1964) sah in dem von WALTNER (1954) als Einwand gegen die Theorie der Liquorabstammung angeführten Eiweißreichtum der Perilymphe gerade ein Argument für eine Liquorströmung zum Perilymphraum hin. Vergleichbar mit den Aussagen von HUGHES und CHOU (1963), die den Liquor als Hauptquelle der Perilymphe nannten, und CITRON et al.(1956), die den Perilymphraum als eine Ausstülpung des Liquorraums betrachteten und den höheren Proteingehalt der Perilymphe auf Stagnation des Flüssigkeitsstroms im Aquaeduct und Helicotrema zurückführten, beschrieb RAUCH (1964) eine Zunahme des Eiweißgehaltes bei unverändertem Elektrolyt- und abnehmendem Zuckergehalt des Liquors entlang seiner Strombahn von den Ventrikeln über

die Zisterna cerebellomedullaris nach lumbal und nannte dieses Phänomen "Eindickung des Liquors". Dennoch vertritt RAUCH (1964) die Theorie der Perilymphentstehung aus mehreren Quellen. Er berechnete für den arteriellen Schenkel des cochleären Kapillarnetzes in der Scala vestibuli einen Filtrationsdruck von neun Torr und für den venösen Abschnitt einen Resorptionssog von 11 Torr. Desweiteren beschrieb er ein Experiment am Meerschweinchen mit gleichzeitiger Perilymphentnahme aus beiden Scalen der Basalwindung. Nach anfänglich gleichstarkem Fluß überwog zwischen der vierten und zehnten Minute die Scala vestibuli, danach die Scala tympani. RAUCH interpretierte dieses Ergebnis als zunächst starke Perilymphproduktion in der Scala vestibuli und einen ersatzweise eintretenden Liquornachstrom bei deren Erschöpfung, wobei er diese Theorie durch die unterschiedlichen Enzymaktivitäten und Eiweißgehalte der verschiedenen Fraktionen bestätigt sieht.

Auch nach GIEBEL (1974) können die Innenohrlymphen aufgrund ihrer qualitativen und quantitativen Unterschiede im Protein- und Aminosäuregehalt keine ausschließlichen Ultrafiltrate, weder des Serums noch des Liquors sein. ORSULAKOVA (1975) hielt passive Vorgänge für die Quantität und aktive Prozesse für die Qualität dieser Flüssigkeiten für verantwortlich; letztere seien wegen des hohen Energieverbrauchs wahrscheinlich.

In den übereinstimmenden Enzymmustern der hyper- und hypochromen Zellen der Stria vascularis mit Leber- und Nierentubuluszellen, die erwiesenermaßen Sekretions- und Resorp-

tionsfunktion erfüllen, sah NAKAI (1965) einen Hinweis dafür, daß diese Vorgänge auch in der Stria vascularis ablaufen. VOSTEEN fand 1956 durch Darstellung von Oxidasen und Dehydrogenasen an Cochleapräparaten einen hohen Grundstoffwechsel nicht nur in den Sinnes- und Nervenzellen, wo er wegen der Reizverarbeitung und -weiterleitung ohnehin zu erwarten war, sondern auch in Teilen des Ligamentum spirale, in der Stria vascularis und in der Crista basilaris und sah darin Zeichen energieverbrauchender Sekretionsvorgänge. Er wies auch auf SHAMBOUGH (1909) hin, der im Striaepithel drüsenartige Lichtungen gefunden hat.
Den intensiven Stoffwechsel neuraler Strukturen beschrieben auch MEYER ZUM GOTTESBERGE und PLESTER (1961) anhand autoradiografischer Untersuchungen von Cochleaschnitten nach intravenöser Gabe von tritiummarkiertem Leucin. Ein Vergleich der Versorgungslage von Reissnermembran und Cortiorgan ergab, daß beide auf Diffusion angewiesen sind, das Cortiorgan jedoch besser gestellt ist als die ebenfalls sehr stoffwechselintensive Reissnermembran, deren Versorgung vom Rand her wegen der gleichmäßigen Silberkorndichte jedoch auszuschließen war. Die Besserversorgung des Cortiorgans kann, so die Autoren, nur eine Leistung der Cortilymphe sein, da die anatomische Struktur der Basalmembran und die schlechte Versorgungslage der tympanalen Belegschicht gegen ein Angebot aus der Scala tympani sprechen. Die vermehrte Silberkorndichte im Ligamentum spirale oberhalb des Ansatzes der Reissnermembran und in Zellen des medialen Sulcus der Scala vestibuli brachten die Autoren mit

dem hohen Eiweißgehalt der Perilymphe in Zusammenhang und sahen trotz größter Zurückhaltung bei der Interpretation ihrer Ergebnisse und des Hinweises, daß keine Rückschlüsse auf den Transport anderer Substanzen erlaubt seien, durch ihre Untersuchungen die aktive Sekretion spezifischer Stoffe im sekretorischen Epithel der Stria vascularis eher bestätigt als widerlegt. Auch ANGELBORG (1973) bezweifelte eine freie Kommunikation zwischen Cortilymphraum und Perilymphe, weil ersterer von Zellen ektodermaler Herkunft begrenzt wird, die Wandzellen des Perilymphraums aber mesodermaler Herkunft sind.

Dem stehen die Befunde von ALTMANN und WALTNER (1950) gegenüber, die ein Permeiren von Eisensalzen durch die Basalmembran von der Scala tympani in den Interzellularraum des Cortiorgans und den Ductus cochlearis beschrieben.

SCHNIEDER (1974) fand beim Meerschweinchen nach einstündiger Schallbelastung mit weißem Rauschen von 75 bis 125 Dezibel einen Anstieg des Laktatspiegels in der tympanalen Perilymphe bei normalem Blutlaktatspiegel und eine Verlängerung der cochleären Umsatzhalbwertszeit als Resultat von zwei sich additiv auswirkenden Folgen des Dauerlärms. Zu dem steigenden Energiebedarf des Cortiorgans kam die reflektorische Drosselung der labyrinthären Durchblutung, die schließlich zu Sauerstoffmangel und damit anaerober Glykolyse führte, deren Endprodukt, das Laktat, wegen der Mangeldurchblutung nicht mehr in ausreichendem Maße abtransportiert werden konnte und in der Perilymphe der Scala tympani immer höhere Spiegel erreichte. Der Schwellen-

wert lag zwischen 90 und 100 Dezibel, und das Signifikanzniveau stieg mit der Intensität der Schallbelastung deutlich an. Aufgrund dieser Befunde und ihrer Interpretationen hielt der Autor die Perilymphe für den führenden Versorger des Cortiorgans. GIEBEL (1974) schrieb diesbezüglich der Endolymphe wegen ihres hohen Gehaltes an stoffwechselaktiven Aminosäuren und hoher Enzymaktivitäten ebenfalls eine gewichtige Rolle zu. Die beiden Theorien schließen sich jedoch nicht gegenseitig aus.

Den engen Zusammenhang zwischen tympanaler Perilymphe und Funktion des Cortiorgans beschrieben neben SCHNIEDER (1974) auch SANDO et al.(1971) sowie SCHUKNECHT und SEIFI (1963) in Form feiner Kanälchen in der Lamina spiralis ossea. Diese stellen eine Verbindung zwischen Scala tympani und Perineuralraum der vom Ganglion spirale kommenden marklosen Nervenfasern her und dienen so der Schaffung eines zur Reizleitung geeigneten Milieus. Als Beweis hierfür zitieren SCHUKNECHT und SEIFI (1963) die Ergebnisse von TASAKI et al.(1952), nach denen das Cochleamikrofonpotential bei Durchspülung der Scala tympani mit kaliumreichen Lösungen aufgehoben sein soll, nicht jedoch nach Spülung der Scala vestibuli.

CITRON et al.(1956) beschrieben die Endolymphe nach vergleichenden Untersuchungen als der Intrazellularflüssigkeit ähnlich und verweisen auf SMITH et al.(1954), die aufgrund neurophysiologischer Überlegungen zu der Überzeugung gekommen waren, daß die Nervenfasern, die den Tunnel des Cortiorgans durchqueren, nicht von Endolymphe umspült sein kön-

nen. SCHUKNECHT und SEIFI (1963) beobachteten nach experimenteller Endolymphraumfistelung durch Punktion des Ductus cochlearis eine Beschränkung der Hörstörung auf die Frequenzen, deren Perzeptionsstellen im Cortiorgan bei der Punktion zerstört worden waren. Die Auswirkung der Kommunikation zwischen kaliumreicher Endolymphe und Perilymph- bzw. Cortilymphraum im Bereich der Fistel konnten deswegen nicht beurteilt werden. Sie hatte jedoch keinen Einfluß auf das Gehör der übrigen Frequenzen und zog nicht den Zusammenbruch der Gesamtfunktion des Cortiorgans nach sich. Die Autoren zogen daraus den Schluß, daß trotz freier Austauschmöglichkeit keine Elektrolytverschiebungen stattfänden, oder falls doch, nicht so wichtig für die Funktion des Hörorgans seien. Der Versuch, diese Beobachtungen mit den oben zitierten Befunden TASAKIs (1952) zu erklären, d.h. daß SCHUKNECHT und SEIFI (1963) eine Fistel zwischen Ductus cochlearis und Scala vestibuli geschaffen hätten, wo eine Kaliumanreicherung keine Auswirkung hat, könnte nur für die oberen Windungen zutreffen. In der Basalwindung war die Endolymphfistel durch Punktion des Runden Fensters und der Basalmembran erzeugt worden, d.h. es bestand eine Verbindung zwischen Ductus cochlearis und Scala tympani.
RAUCH (1964) beschrieb ebenfalls die Aufrechterhaltung des Cochleamikrofonpotentials bei Ruptur der Reissnermembran, und daß die tympanale und vestibuläre Perilymphe der Basalwindung trotz freier Kommunikation über das Helicotrema einen unterschiedlichen Kaliumgehalt aufweisen. Als weiteres Beispiel gegen den freien Austausch von Elektrolyten in

kommunizierenden Flüssigkeitsräumen führte er die Untersuchungen von AMOORE et al.(1959) an, nach denen die Perilymphe der Octopoden andere Kalium- und Natriumkonzentrationen aufweist als das Meerwasser, obwohl sie mit diesem frei kommunizieren. Doch spricht diese Tatsache nicht gegen freien Austausch der Elektrolyte, sondern vielmehr dafür, daß ständige Sekretions- und/oder Resorptionsvorgänge einen Konzentrationsausgleich trotz offener Verbindungswege verhindern.

Die bereits in der Einleitung erwähnten Schwierigkeiten bei der Erforschung der Innenohrflüssigkeiten gelten in besonderem Maße für die Endolymphe, da ihr Volumen sehr viel kleiner ist als das der Perilymphe und sie mit Ausnahme des Ductus und Saccus endolymphaticus ganz in den Perilymphraum eingebettet liegt. Entsprechend geringer ist der Umfang der Literatur, wobei die Meinungen über Entstehung, Strömung und Resorption der Endolymphe keineswegs weniger divergieren als dies bei der Perilymphe der Fall ist. Meist wurde die Endolymphe bei Markierungsversuchen des Liquors mituntersucht, einige Autoren gingen sie gezielt an. ALTMANN und WALTNER (1950) fanden nach suboccipitaler Applikation von Eisensalzlösungen innerhalb 15 Minuten deren Ausbreitung in beiden Perilymphscalen, und von dort aus ihr weiteres Vordringen über die Basalmembran und Reissnermembran in das Ligamentum spirale und den Ductus cochlearis. Da der übrige Endolymphraum frei davon war, interpretierten sie diese Befunde als Zeichen sehr effektiver Re-

sorptionsvorgänge im Ductus cochlearis. Eine zum Saccus endolymphaticus gerichtete Strömung lehnten sie ab und nahmen an, daß die leichte Anfärbung der medialen Wand des Endolymphsackes direkt vom Subarachnoidalraum durch die Dura hindurch diffundiert sei. Bei direkter Markierung der Perilymphe durch Punktion des Runden Fensters erreichten die Eisensalze nach Diffusion in den Ductus cochlearis innerhalb 16 Minuten den Endolymphsack. Die Autoren begründeten dies mit der Überladung der Resorptionskapazität, da die in die Cochlea eingebrachte Menge an Eisensalzen wesentlich höher lag als bei intrathekaler Applikation. Dazu ist jedoch zu sagen, daß im Falle des Zutreffens dieser Erklärung der Marker lediglich im Ductus cochlearis länger hätte liegen bleiben müssen. Das Erreichen des Saccus endolymphaticus innerhalb so kurzer Zeit läßt sich nur durch eine Strömung erklären, die nicht als Applikationsartefakt zu betrachten ist, da nicht in den Ductus cochlearis direkt injiziert worden war, und somit kein Überdruck im Endolymphraum entstehen konnte.

GIEBEL (1982) fand beim Meerschweinchen eine relativ rasche Strömung im Ductus cochlearis basalwärts, obwohl er nur 0,1 Mikroliter Rhodaminlösung bzw. fluoreszeinmarkiertes Gammaglobulin nahezu druckfrei in den Ductus cochlearis der Basalwindung eingebracht hatte. Bereits nach zehn Minuten erreichte die Testsubstanz den Endolymphsack, was mit den Werten von ALTMANN und WALTNER (1950) gut übereinstimmt und bei einer Entfernung von etwa sieben Millimetern einer Strömungsgeschwindigkeit von gut 40 Millimetern pro Stunde

entspricht. Bei Applikation post mortem breitete sich die Substanz durch Diffusion wesentlich langsamer und nach beiden Richtungen, also basal und apikal aus. Die bei In-vivo-Versuchen erhobenen Befunde konnten also nur durch eine Strömung zustande gekommen sein und sprechen sehr dafür, daß der Saccus endolymphaticus ein Resorptionsorgan der Endolymphe darstellt.

In die gleiche Richtung weisen die Untersuchungen von KIMURA et al.(1974), die nach Obstruktion des Saccus endolyphaticus degenerative Veränderungen von Sinnes- und Nervenzellen in unterschiedlicher Ausdehnung und einen endolymphatischen Hydrops ergaben. Der Beobachtungszeitraum umfaßte bis zu sieben Monate. Bei zusätzlicher Obstruktion war das Ergebnis das gleiche; es ergab sich keine Verstärkung des Effekts. Alleinige Blockade des Aquaeductus cochleae hatte, wie in anderen gleichartigen Experimenten bereits oben beschrieben, keine Auswirkung auf die Innenohrlymphen.

SCHUKNECHT und SEIFI (1963) stellten ebenfalls Verschlußexperimente zur Klärung der Funktion von Ductus und Saccus endolymphaticus an und kamen aufgrund abweichender Befunde zu gegensätzlichen Interpretationen. Eineinhalb bis vier Monate nach Zerstörung des Endolymphsackes bei der Katze fanden sie normale Werte bei der Tonschwellenaudiometrie und schlossen daraus, daß der Saccus endolymphaticus kein Resorptionsorgan der Endolymphe sei. Da die Tiere für andere Experimente benötigt wurden, erfolgte keine histologische Kontrolluntersuchung des Operationserfolges.

Die Sekretionsfunktion des Endolymphsackes war das Unter-

suchungsziel zweier weiterer Experimente. Nach Verschluß des unteren Anteils des Ductus endolymphaticus durch Zugang vom Vestibulum her hätte sich der Saccus endolymphaticus im Falle einer dort stattfindenden Sekretion wegen fehlenden Abflusses ausweiten müssen, was jedoch nicht geschah. Die in diesen Fällen durchgeführte histologische Aufarbeitung zeigte einwandfreien Verschluß des Endolymphganges; ein Hydrops von Sacculus und Ductus cochlearis wurde nicht erwähnt, war jedoch auch nicht zu erwarten, da durch den Zugang vom Vestibulum her die Kontinuität des Endolymphsystems nicht mehr gewahrt war (Sacculus). Eine weitere Versuchsserie, in der der Endolymphsack durch Aluminiumpaste, in die hintere Schädelgrube eingebracht, zu Hypersekretion gereizt werden sollte, verlief ebenfalls negativ. Nach Ansicht der Autoren ist die Volumenregulation der Endolymphe vom Saccus endolymphaticus vollkommen unabhängig, und seine Funktion besteht möglicherweise in der Beeinflussung metabolischer Prozesse.

ARNVIG (1951) fand suboccipital injizierte Tusche außer in der Perilymphe auch in Teilen des Endolymphraums wieder, meist im Sacculus und Saccus endolymphaticus, sowie in dem Bindegewebe, das den Endolymphsack umgibt. Eine Strömung vom Saccus zum Sacculus hielt der Verfasser für unwahrscheinlich, weil die beiden Fundorte nicht mit einer Spur miteinander zusammenhingen, sondern vollkommen getrennt voneinander lagen. Außerdem befanden sich die Tuscheparti-kel im Endolymphsack und dessen Wand innerhalb von Makrophagen, die die Wand in beide Richtungen frei durchwandern

können, im Sacculus lagen sie frei in der Endolymphe. Der Autor sah die Aufgabe der Makrophagen in der Proteolyse der im Endolymphsack reichlich vorhandenen Eiweiße und somit deren Zubereitung für den Abtransport in das Blut. Er hielt Sekretions- und Resorptionsvorgänge im gesamten Endolymphsystem für möglich, sah jedoch die Hauptfunktion des Endolymphsackes in der Resorption der Endolymphe. ANGELBORG (1973) unternahm Injektionsversuche in die Endolymphe auf zweierlei Weise. In einer Serie trepanierte er den Ductus cochlearis in der ersten und vierten Windung und durchspülte ihn mit 40 bis 50 Mikrolitern Thorotrast^{R}. Dies entsprach dem fünffachen des vorhandenen Volumens und somit einem kompletten Austausch der Endolymphe gegen den Tracer. Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung zeigten alle den Endolymphraum begrenzenden Zellen Thorotrast^{R} in pinocytotischen Vesikeln. Auch die Zellen des Cortiorgans, die Stützzellen mehr als die Sinneszellen, wiesen solche Vesikel auf. Wegen möglicher Gewebszerreißungen bei der Applikation großer Volumina in den Ductus cochlearis und der dadurch bedingten artefiziellen Verbindungen zwischen den verschiedenen Lymphräumen zog der Verfasser als Fazit dieses Experiments lediglich die Phagocytosefähigkeit aller Cortiorganzellen bei Kontakt mit Fremdmaterial in extremen Konzentrationen. In einer zweiten Versuchsreihe mit Applikation von weniger als 0,1 Mikroliter Thorotrast^{R} durch ein einzelnes Bohrloch konnte der Tracer nur noch entlang der endolymphatischen Zellgrenzen und in der Tektorialmembran nachgewiesen werden. Nur in einem Fall

zeigten sich einige Vesikel in einer Pfeilerzelle und einer Deiterszelle, worin der Autor jedoch kein Zeichen von Kommunukation des Cortiorgans mit der Endolymphe, sondern eine unphysiologische Reaktion sah. Er enthielt sich jeglicher Äußerung über die Strömungsverhältnisse im Endolymphraum.

Wie aus den obigen Ausführungen hervorgeht, ist die Diskussion über Entstehung und Strömung der Innenohrflüssigkeiten sowie die Beziehungen des Labyrinths zu den Liquorräumen des ZNS noch immer offen, da bisherige Untersuchungen je nach Ansatz zu verschiedenen, sich oft widersprechenden Ergebnissen führten.

Die hier vorliegenden Resultate sprechen dafür, daß die Perilymphe in der Cochlea selbst gebildet wird, wobei in ihren einzelnen Abschnitten verschiedene Schrankenverhältnisse anzunehmen sind. Eine cochleopetale Liquorströmung im Aquaeductus cochleae ist mit großer Wahrscheinlichkeit auszuschließen. Vieles spricht jedoch für eine Strömung in die Gegenrichtung und für eine langsame apikobasale Flüssigkeitsbewegung in den Scalen der Schnecke.

Vorversuche zur quantitativen Untersuchung dieser Vorgänge wurden unternommen und es bleibt abzuwarten, ob weitere Studien die hier gefundenen Ergebnisse bestätigen werden.

5. Zusammenfassung

Nach systemischer Fluoreszeinapplikation am Meerschwein-

chen und der Analyse seiner Verteilung im Innenohr am Kryotom ergab sich folgendes: Starke Anreicherung in den Bindegewebsstrukturen, so auch im Mucoperiost der Bulla tympanica. Sehr wahrscheinlich gelangte der Marker von dort aus auf zwei Diffusionswegen in die Cochlea, einmal durch die im Apexbereich sehr dünne knöcherne Schneckenschale mit Ausbreitung zur Basis hin, zum anderen durch die Runde-Fenstermembran mit nur geringer Ausbreitung apikalwärts und Vordringen in den Aquaeductus cochleae. An der Modiolusbasis bestand eine dritte Anreicherung um den Plexus der Arteria spiralis Modioli. Davon ausgehend, oder aber als unabhängiger vierter Zugangsweg zeigte die Scala tympani der zweiten Windung starke Fluoreszenz; die zweite Halbwindung wurde weder von basal noch von apikal her erreicht. Die Endolymphe im Ductus cochlearis hob sich durch deutlich geringere Anfärbung von den Perilymphscalen ab. Zum Sacculus und Saccus endolymphaticus hin nahm die Fluoreszenzstärke mit der Versuchsdauer zu. In den Bogengängen übertraf die Perilymphe stets die Endolymphe, die fast klar blieb. Verteilung und Stärke der Fluoreszenz änderten sich in den extracochleären Strukturen über den gesamten Beobachtungszeitraum nur wenig. Die Befunde sprechen gegen die Liquorabstammung der Perilymphe und gegen eine Longitudinalströmung in den Perilymphscalen; radiäre Austauschvorgänge sind wahrscheinlich. Die Endolymphe wirde vermutlich im Ductus cochlearis gebildet und strömt basalwärts über den Sacculus zum Saccus endolymphaticus, wo sie resorbiert wird.

6. Literaturverzeichnis

ALTMANN, F., WALTNER, J.G.: The circulations of the labyrinthine fluids;
Ann. otol. (St. Louis) 56, 684 - 708 (1947)

ALTMANN, F., WALTNER, J.G.: Further investigations on the physiology of labyrinthine fluids;
Ann. otol. (St. Louis) 59, 657 - 686 (1950)

AMOORE, J.E., RODGERS, K., YOUNG, J.Z.: Sodium and potassium in the endolymph and perilymph of the statocyst and in the eye of octopus;
J. exp. Biol. 36, 709 (1959)

ANGELBORG, C.: Distribution of macromolecular Tracer Particles (Thorotrast) in the Cochlea. An Electron Microscopic Study in Guinea Pig;
Acta oto-laryng. (Stockh.) Suppl. 319, 19 - 41 (1973)

APPLEBAUM, E.L.: Fluoreszein kinetics in perilymph and blood, a fluorophotometric study;
Laryngoscope 92, 660 - 671 (1982)

ARNOLD, W., ILBERG, C.v.: Verbindungswege zwischen Liquor- und Perilymphraum;
Arch. klin. exp. Ohr.-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 198, 247 - 261 (1971)

ARNOLD, W., RITTER, R., NITZE, H.R., WAGNER, W.: Morphologische und kinetische Studien zum Lymphabfluß des Liquor cerebrospinalis;
Arch. klin. exp. Ohr.-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 202, 389 - 394 (1972)

ARNOLD, W., RITTER, R., WAGNER, W.H.: Quantitative Studies on the Drainage of the Cerebrospinal Fluid into the Lymphatic System;
Acta oto-laryng. (Stockh.) 76, 156 - 161 (1973)

ARNOLD, W., VOSTEEN, K.H.: Zur Physiologie von Perilymphe und Endolymphe;
Handbuch der HNO-Heilkunde in Praxis und Klinik (Berendes, J., Link, R., Zöllner, F. Edit.)
Band 5, 4.1 - 4.37 (1979)

ARNVIG, J.: Relation of the Ear to the Subarachnoid Space and Absorption of the Labyrinthine Fluid;
Acta oto-laryng. (Stockh.) Suppl. 96, 1 - 73 (1951)

CITRON, L., EXLEY, D., HALLPIKE, C.S.: Formation, circulation and chemical properties of the labyrin-

thine fluids;
Brit. med. Bull. 12, 101 - 104 (1956)

EULITZ, C.M., SCHEUERMANN, S., THIER, H.J.: abc chemie;
Zweite, verbesserte Auflage, Verlag Harri
Deutsch, Frankfurt/Main und Zürich.

GIEBEL, W.: Proteins and aminoacids in inner ear fluids;
Otorhinolaryngology, Proceedings of X World Congress (Arslan, M., Ricci, V., eds.)
Excerpta medica ICS 337, 790 - 793 (1974)

GIEBEL, W.: Das dynamische Verhalten der Innenohrflüssigkeiten;
Laryng., Rhinol., Otol. 8, 481 - 488 (1982)

GISSELSSON, L.: Zur Frage der Herkunft der Perilymphe und Endolymphe;
Arch. Ohr.-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 156, 202 - 204 (1949)

GRAF, K., PORETTI, G.: Die Entstehung der Perilymphe;
Pract. Oto-Rhino-Laryng. (Basel) 12, 351 - 365 (1950)

GRAY, A.A.: The Labyrinth of Animals;
London (1907)

HAUG, H.P., GIEBEL, W., BREUNINGER, H.: Die Ausbreitung von Tetrazyklin im Innenohr nach unterschiedlicher Applikation im Mittelohr;
Arch. Oto-Rhino-Laryng. 218, 229 - 238 (1978)

HUGHES, D.E., CHOU, J.T.Y.: The Origin of the Perilymph of the Inner Ear;
Life Sci. 2, 107 - 111 (1963)

JAHNKE, K.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Permeabilitätsbarrieren des Innenohres;
Arch. klin. exp. Ohr.-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 204, 199 - 216 (1973)

JAKO, G.F.L., WEILLE, F.L., PALMER, P.E., IRWIN, J.W.: An Experimental Study of the Dynamic CIrculation of the Labyrinthine Fluids;
Ann. otol. (St. Louis) 68, 733 - 739 (1959)

JAMPOLSKI, L.N.: Über den morphologischen Zusammenhang des Subarachnoidalraumes mit dem Labyrinth;
Mschr. Ohrenheilk. 69, 23 - 34 (1935)

JUHN, S.K., GUZOWSKI, J.: The passage of intracisternally injected albumin and urea into perilymph;
Acta oto-laryng. (Stockh.) 76, 313 - 318 (1973)

KARBOWSKI, B.: Vergleichende anatomische Studien über den

Aquaeductus cochleae und über seine Beziehungen zum Subarachnoidalraum des Gehirns; Mschr. Ohrenheilk. 64, 687 - 715 (1930)

KAUPP, H., GIEBEL, W.: Distribution of marced perilymph to the subarachnoid space; Arch. Otorhinolaryngol. 229, 245 - 253 (1980)

KIMURA, R.S., SCHUKNECHT, H.F., OTA, C.Y.: Blockage of the Cochlear Aquaeduct; Acta Otolaryng. 77, 1 - 12 (1974)

KLATZO, J., JAIME, M., OTENASEK, R.: The Applikation of Fluoreszein Labeled Serum Proteins (FLSP) to the Study of Vascular Permeability in the Brain; Acta Neuropathologica 2, 144 - 160 (1962)

KLEY, E.: Zur Herkunft der Perilymphe; Z. Laryng. Rhinol. 30, 486 - 502 (1951)

KOBURG, E., MAASS, B.: Durchblutung des Innenohres; Handbuch der HNO-Heilkunde in Praxis und Klinik (Berendes, J., Link, R., Zöllner, F., Edit.) Band 5, 5.1 - 5.28 (1979)

KOMMOSS, J., GIEBEL, W.: Ausbreitung löslicher Substanzen nach Applikation in die Zisterna cerebellomedullaris; Arch. Oto-Rhino-Laryng. 221, 67 - 76 (1978)

MAASS, B., STUPP, H.F.: Tetrazyklinfluoreszenz im Innenohr bei lokaler und parenteraler Applikation; Arch. Oto-Rhino-Laryng. 208, 89 - 96 (1974)

MEURMANN, Y.: Zur Anatomie und Physiologie des Aquaeductus cochleae. Vorläufige Mitteilungen; Z. Laryng. Rhinol. 17, 401 - 409 (1929)

MEYER ZUM GOTTESBERGE, A., PLESTER, D.: Autoradiographische Untersuchungen zum Stofftransport in der Cochlea des Meerschweinchens; Arch. f. Ohr.-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 178, 145 - 150 (1961)

NAKAI, Y.: Histochemical study of the stria vascularis in the inner ear by electron microscopy; Ann. otol. (St. Louis) 74, 326 - 337 (1965)

NEIGER, M.: Zur Morphologie und Physiologie des Aquaeductus cochleae; Habilitationsschrift (1968)

NOMURA, Y.: Capillary permeability of the cochlea; Ann. Otol. 70, 81 - 101 (1961)

ORSULAKOVA, A.: Experimentelle Untersuchungen über die passiven Austauschvorgänge zwischen Liquor cerebrospinalis, Blut und Innenohrflüssigkeiten (beim Meerschweinchen); Inauguraldissertation, Düsseldorf (1975)

QUIX, F.H., EGMOND, A.J.: Über das Eindringen von Eisencocainsalzlösungen aus dem Mittelohr in das Labyrinth von Meerschweinchen; Z. Hals-, Nas.- u. Ohrenheilk. 32, 26 - 53 (1933)

RAUCH, S.: Biochemie des Hörorgans. Einführung in die Methoden und Ergebnisse; Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1964)

RITTER, F.N., LAWRENCE, M.: A Histological and Experimental Study of Cochlear Aquaeduct Patiency in the Adult Human; Laryngoscope 75, 1224 - 1233 (1965)

SANDO, I., WOOD, R.P., MASUDA, Y., HEMENWAY, W.G.: Perilymphatic Communication Routes in Guinea Pig Cochlea; Ann. Otol. 80, 826 - 834 (1971)

SCHINDLER, K.: Perilymphe als Ultrafiltrat des Serums; Arch. Ohr.-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 186, 586 - 592 (1965)

SCHNIEDER, E.A.: A Contribution to the Physiology of the Perilymph. Part I: The Origins of Perilymph; Ann. Otol. 83, 76 - 83 (1974)

SCHNIEDER, E.A.: A Contribution to the Physiology of the Perilymph. Part III: On the Origin of Noise induced Hearing Loss; Ann. Otol. 83, 406 - 412 (1974)

SCHREINER, L.: Untersuchungen zum Stoffwechsel und Herkunft von Perilymphe; Arch. Ohr.-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 178, 140 - 145 (1961)

SCHREINER, L.: Untersuchungen mit markierten Stoffen zur Durchgängigkeit des Aquaeductus cochleae; Arch. Ohr.-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 182, 587 - 590 (1963)

SCHREINER, L.: Experimentelle Untersuchungen über die Bildungsstätten und den Stoffaustausch der Perilymphe; Acta oto-laryng. (Stockh.) 212, 1 - 56 (1966)

SCHUKNECHT, H.F., SEIFI, A.E.: Experimental Observations

on the Fluid Physiology of the Inner Ear;
Ann. otol. (St. Louis) 72, 687 - 712 (1963)

SHAMBOUGH, G.E.: Über Bau und Funktion des Epithels des Sulcus spiralis externus;
Z. Ohrenheilk. 58, 280 - 287 (1909)

SILVERSTEIN, H.: Cochlear Aquaeduct Obstruction Changes in Perilymph Biochemistry;
Ann. Otol. 78, 532 - 541 (1969)

SMITH, C.A., LOWRY, H.O., WU, M.L.: The electrolytes of the labyrinthine fluids;
Laryngoscope (St. Louis) 64, 141 - 153 (1954)

SVANE-KNUDSEN, W.v.: Resorption of the Cerebrospinal Fluid in Guinea Pig;
Acta oto-laryng. (Stockh.) 49, 240 - 251 (1958)

TANAKA, M.: On the Function of the Aquaeductus Cochleae;
Z. otol. (Tokyo) 36, 26 - 27, 30 - 31, 47 - 49 (1930)

TASAKI,I., FERNANDEZ, C.: Modification of Cochlear Microphonics and Action Potentials by KCl Solution and by Dirct Currents;
J. Neurophysiol. 15, 497 - 512 (1952)

VOSTEEN, K.H.: Untersuchungen über den Grundstoffwechsel im Innenohr des Meerschweinchens;
Z. Laryng. Rhinol. 35, 400 - 402 (1956)

WALTNER, J.G.: The Chemical Composition of Perilymph in Cats;
Laryngoscope 64, 439 - 453 (1954)

WERNER, C.F.: Das Labyrinth. Bau, Funktion und Krankheiten des Innenohres. Vom Standpunkt einer experimentellen und vergleichenden Pathologie. Mit einem Geleitwort von W. Lange;
Leipzig, Georg Thieme (1940)

WITTMAAK, K.: Betrachtungen über die Erkrankungsprozesse des inneren OHres auf der Grundlage der Tonuslehre;
Arch. Ohr.-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 141, 25 - 42 (1942)

7. Anhang: Tabellen und Abbildungen

7.1 Narkose

Tabelle 1: Narkosedosen

Versuch Nr.	Körp.-gew. (kg)	Erstinj. (ml)	Nachinj. (Zahl)	Nachinj. (ml)	Ges.-inj. (ml)	Erstdosis (ml/kg)	Nachinj.-dosis (ml/kg)	Gesamtdosis (ml/kg)
1	0,390	1,6	0	0,0	1,6	4,1	0,0	4,1
2	?	1,2	1	0,5	1,7	?	?	?
3	?	1,2	1	0,3	1,5	?	?	?
4	0,500	1,4	3	0,8	2,2	2,8	1,6	4,4
5	0.440	1,4	2	0,4	1,8	3,2	0,9	4,1
6	0,320	1,4	0	0,0	1,4	4,4	0,0	4,4
7	0,400	1,4	0	0,0	1,4	3,5	0,0	3,5
8	0,400	1,4	0	0,0	1,4	3,5	0,0	3,5
9	spontan +							
10	0,385	1,3	1	0,2	1,5	3,4	0,5	3,9
11	0,393	1,4	2	0,3	1,7	3,6	0,8	4,3
12	0,510	1,4	3	0,4	1,8	2,7	0,8	3,5
13	0,444	1,4	1	0,2	1,6	3,1	0,5	3,6
14	0,370	1,3	6	0,7	2,0	3,5	1,9	5,4
15	0,542	1,3	4	0,6	1,9	2,4	1,1	3,5
16	0,520	1,4	6	0,8	2,2	2,7	1,5	4,2
17	0,500	1,4	3	0,4	1,8	2,8	0,8	3,6
18	0,565	1,5	4	0,7	2,2	2,6	1,2	3,9
19	0,670	1,5	6	0,9	2,4	2,2	1,3	3,6
20	0,450	1,3	6	0,7	2,0	2,9	1,6	4,4
21	0,455	1,4	2	0,4	1,8	3,1	0,9	4,0
22	0,270	1,0	2	0,2	1,2	3,7	0,7	4,4
23	0,340	1,0	4	0,5	1,5	2,9	1,5	4,4
24	0,965	1,5	7	1,9	3,5	1,7	2,0	3,6
25	0,345	1,2	3	0,6	1,8	3,5	1,7	5,2
26	0,400	1,5	1	0,1	1,6	3,7	0,3	4,0
27	0,420	1,5	1	0,3	1,8	3,6	0,7	4,3
28	0,405	1,5	1	0,2	1,7	3,7	0,5	4,2
29	0,475	1,5	2	0,4	1,9	3,2	0,8	4,0
30	0,440	1,5	5	1,3	2,8	3,4	3,0	6,4

Tabelle 1: Narkosedosen (Fortsetzung)

Versuch Nr.	Körp.-gew. (kg)	Erst-inj. (ml)	Nach-inj. (Zahl)	Nach-inj. (ml)	Ges.-inj. (ml)	Erst-dosis (ml/kg)	Nachinj.-dosis (ml/kg)	Gesamt-dosis (ml/kg)
31	0,420	1,5	2	0,5	2,0	3,6	1,2	4,8
32	0,420	1,6	2	0,6	2,2	3,8	1,4	5,2
33	0,448	1,6	4	1,0	2,6	3,6	2,2	5,8
34	0,265	1,4	1	0,2	1,6	5,3	0,8	6,0
35	0,295	1,6	1	0,2	1,8	5,4	0,7	6,1
36	0,465	1,6	4	0,9	2,5	3,4	1,9	5,4
37	0,365	1,6	1	0,1	1,7	4,4	0,3	4,7
38	0,345	1,6	0	0,0	1,6	4,6	0,0	4,6
39	0,425	1,6	0	0,0	1,6	3,8	0,0	3,8
40	0,335	1,6	0	0,0	1,6	4,8	0,0	4,8
41	0,448	1,6	4	0,4	2,0	3,6	0,9	4,5
42	0,425	1,6	4	0,6	2,2	3,8	1,4	5,2
43	+ nach 8ml wegen Otitis							
44	0,465	1,7	6	0,8	2,5	3,7	1,7	5,4
45	0,467	1,7	4	0,6	2,3	3,6	1,3	4,9
46	0,535	2,0	2	0,4	2,4	3,7	0,7	4,5
47	0,570	2,0	2	0,4	2,4	3,5	0,7	4,2
48	0,320	1,4	5	1,0	2,4	4,4	3,1	7,5
49	0,340	1,6	5	0,8	2,4	4,7	2,4	7,1
50	0,296	1,6	0	0,0	1,6	5,4	0,0	5,4
51	0,310	1,6	0	0,0	1,6	5,2	0,0	5,2
52	+ nach 4ml wegen Otitis							
53	0,740	2,0	4	2,0	4,0	2,7	2,7	5,4
54	0,900	2,0	7	3,7	5,7	2,2	4,1	6,3

Tabelle 1 zeigt in Verbindung mit Diagramm 1 und 2 die bei der Narkose auftretenden Probleme. Die Erstdosis lag zwischen 2,2 und 5,4 ml/kg KG, und die zur ausreichenden Analgesie erforderliche Nachinjektionsdosis zwischen 0,0 und 4,1 ml/kg KG. Die zu erwartende umgekehrte Proportionalität der beiden Werte besteht jedoch nicht.

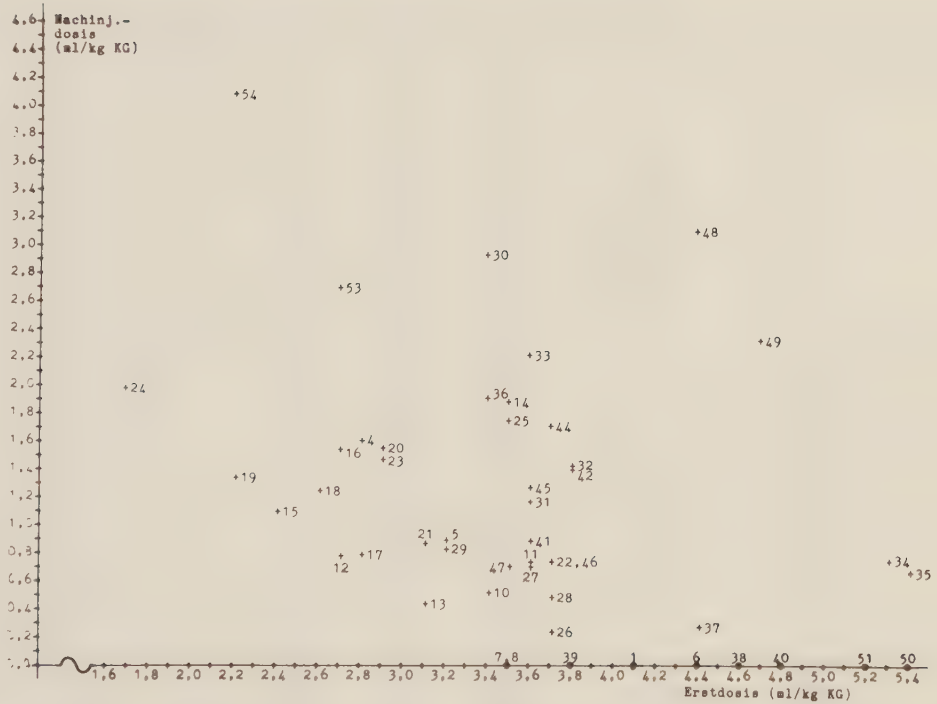


Diagramm 1: Nachinjektionsdosis in Abhängigkeit von der jeweiligen Initialdosis. Jedes Wertepaar ist mit der zugehörigen Versuchsnummer versehen.

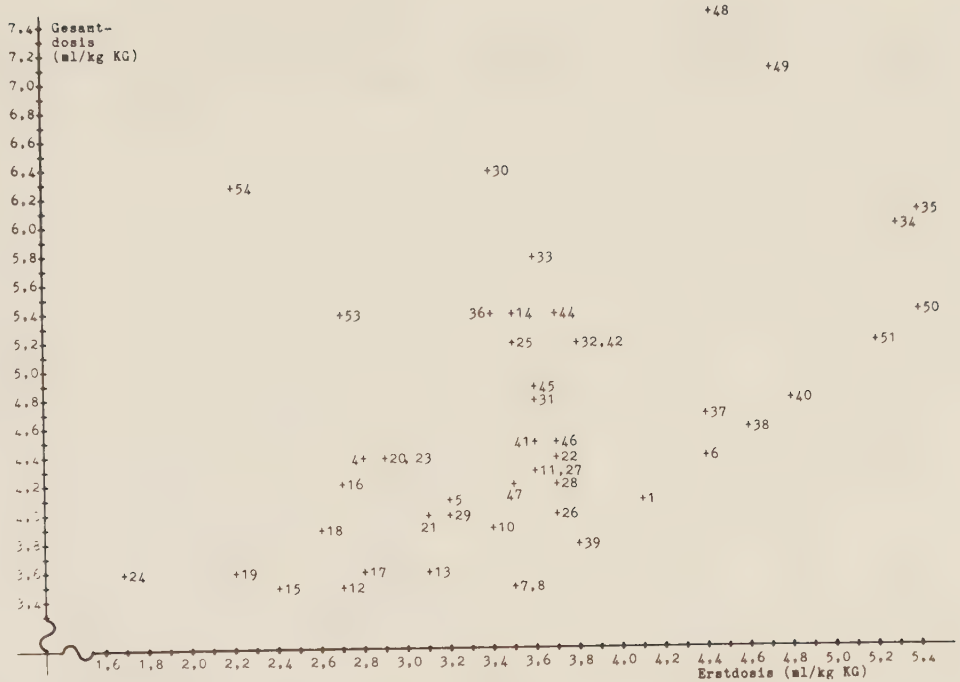


Diagramm 2: Gesamtdosis in Abhängigkeit von der jeweiligen Initialdosis.
Jedes Wertepaar ist mit der zugehörigen Versuchsnummer versehen.

7.2 Ergebnisse

Abkürzungen:

ACM = Aquaeductus cochleae, Mündung (lateral, cochleär)

ACT = Aquaeductus cochleae, Trichter (medial)

BG = Bogengang

DC = Ductus cochlearis (Scala media)

Du = Dura

EL = Endolymphe

KBW = Kleinhirnbrückenwinkel

LCS = Liquor cerebrospinalis

LS = Ligamentum spirale

MAI = Meatus acusticus internus

Mo = Modiolus

MPO = Mucoperiost, Mittelohrschleimhaut

NVC = Nervus vestibulocochlearis

PL = Perilymphe

RFM = Membran des Runden Fensters

SRB = Stapesringband

ST = Scala tympani

SV = Scala vestibuli

Ves = Vestibulum

W = Windung

Beispiel zu Tabelle 2: "ST 1 lat" bedeutet laterale Querschnittfläche der Scala tympani der ersten Windung.

Tabelle 2: Zusammenstellung aller Ergebnisse in der Cochlea

Versuchsdauer:	15`	30`	45`	60`	75`	90`	105`	120`	135`	150`
ST 1 lat	3	3	3	4	4	4	4	3	4	5
1 med	1	2	2	1	2	2	2	2	3	4
2 lat	2	2	2	3	3	3	3	4	4	4
2 med	2	3	3	3	3	4	4	4	5	5
3 lat	1	2	2	2	3	4	4	4	4	5
3 med	2	3	3	4	4	4	4	4	4	5
4	3	3	3	4	4	4	4	4	5	5
DC 1 lat	2	2	2	1	2	2	3	3	2	3
1 med	2	1	2	1	1	1	2	2	2	2
2 lat	1	2	1	1	1	2	2	2	2	2
2 med	1	2	1	2	1	2	3	3	2	2
3 lat	1	2	1	1	2	3	3	2	2	2
3 med	1	2	1	2	3	3	3	3	2	2
4	2	2	1	1	3	3	3	2	2	2
SV 1 lat	2	2	2	3	3	3	3	3	4	4
1 med	1	2	2	1	2	2	2	2	3	3
2 lat	2	2	2	2	3	3	3	3	4	4
2 med	1	2	2	2	3	3	3	3	4	5
3 lat	2	2	2	2	3	4	4	4	4	5
3 med	1	3	3	3	4	4	4	4	4	5
4	3	3	3	3	4	4	4	4	4	5
Mo 1 lat	4	3	3	4	3	4	4	4	4	4
1 med	3	1	1	3	2	2	2	2	2	3
2 lat	3	1	1	3	2	2	3	2	2	3
2 med	3	1	2	3	2	2	2	2	2	2
3 lat	2	0	2	3	1	2	2	0	2	1
3 med	1	0	1	3	0	0	0	0	0	1
LS 1 lat	2	2	2	3	2	3	3	3	3	4
1 med	2	2	2	3	2	2	3	3	3	3
2 lat	2	2	2	3	2	3	3	3	3	4
2 med	2	2	2	3	2	3	3	3	3	4
3 lat	1	2	2	3	2	3	3	3	3	4
3 med	2	2	2	3	3	3	4	4	3	4
4	-	3	3	3	3	3	4	4	-	4

Fluoreszenzskala:

0 = keine
1 = fragliche
2 = schwache
3 = mittelstarke
4 = starke
5 = sehr starke

} Fluoreszenz

Vergleiche Abb. 1, Seite 91

Tabelle 3: Zusammenstellung aller Ergebnisse in den extracochleären Strukturen.

Versuchsdauer:	15`	30`	45`	60`	75`	90`	105`	120`	135`	150`
Dura	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
MPO	5	4	4	5	4	5	5	4	5	5
ACT	4	5	4	4	4	5	5	4	4	5
ACM	3	4	3	4	3	4	4	-	4	4
RFM	3	4	3	4	3	3	4	-	4	4
NVC (perineur.)	4	4	-	4	3	3	5	4	4	4
BG (EL)	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1
BG (PL)	2	3	3	2	2	3	2	2	3	3
Ves	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3
SRB	3	2	2	3	3	3	4	-	3	3
Sacculus	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DEL (EL)	3	4	4	4	-	4	3	4	4	3
DEL(Wand)	3	5	4	5	2	4	4	3	4	4
SEL (EL)	3	4	4	4	4	3	4	4	4	4
SEL (Wand)	4	5	4	5	5	5	5	4	5	4
LCS (KBW)	3	4	3	3	3	4	4	4	4	4
LCS (Zisterne)	-	5	3	3	1	3	4	3	2	4

Fluoreszenzskala:

0 = keine
1 = fragliche
2 = schwache
3 = mittelstarke
4 = starke
5 = sehr starke

} Fluoreszenz

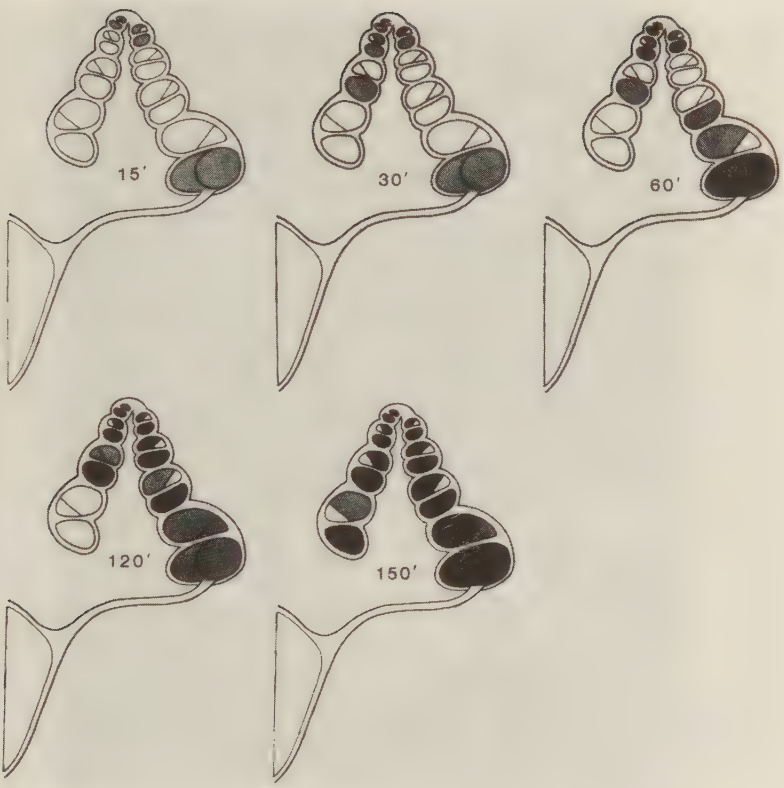


Abb. 1: Schematische Darstellung der Fluoreszeinverteilung in den Lymphscalen der Cochlea 15, 30, 60, 120 und 150 Minuten nach s.c. Applikation von 2ml 10%iger Natrium-Fluoreszeinlösung (Vgl. Tabelle 2, Seite 89).
Es erscheint zunächst widersprüchlich, daß an einigen Stellen die Fluoreszenz bei längerer Versuchsdauer schwächer ist als bei kürzerer. Da jedoch nicht die Kinetik an einem Einzeltier dargestellt ist, sondern die Ergebnisse einer Versuchsreihe mit mehreren Tieren pro Zeitstufe, können interindividuelle Unterschiede der Farbstoffdosis (gleiche Applikationsmenge bei unterschiedlichem Körpergewicht), des Resorptionsgrades und anderer physiologischer Parameter als Erklärung angenommen werden.

Abb. 2: Cochlea im Tangentialschnitt 60 Minuten nach i.p. Fluoreszeinapplikation (UV-Licht, 16-fache Vergrößerung). Man erkennt drei Schwerpunkte der Fluoreszenzverteilung.
1 = die von der Cochleaspitze sich unter Abschwächung basalwärts ausbreitende Front;
2 = die Anreicherung in der basalen Scala tympani, deren Intensität von lateral nach medial abnimmt;
3 = die von den beiden erstgenannten Orten getrennt liegende starke Fluoreszenz der Scala tympani der zweiten Windung.
Das Bild stammt von einem der frühen Versuche (Nr.11), bei denen der Winkel zwischen der optischen Achse des Mikroskops und der Präparatschnittfläche noch etwa 60 Grad betrug. Daher die erhebliche Unschärfe im unteren Bildteil.

Abb. 3: Cochlea mit Rest des Modiolus und gerade angeschnittenem Meatus acusticus internus 60 Minuten nach s.c. Applikation (Versuch Nr.40, UV-Licht, 16-fache Vergrößerung).
Relativ geringe Fluoreszenz in den Lymphscalen, jedoch sehr starke perivasale Anreicherung im basalen Teil des Modiolus. Oberhalb der zweiten Windung keine Fluoreszenz des perivasalen Gewebes.

Abb. 4: Apikale Hälfte der Cochlea mit axial geschnittenem Modiolus, 150 Minuten Versuchsdauer (Nr. 50, UV-Licht, 40-fache Vergrößerung).
Die Perilymphscalen der oberen drei Windungen weisen starke Fluoreszenz auf, während die Endolymhe des Ductus cochlearis frei davon ist. Das perivasale Gewebe im Modiolus zeigt nur andeutungsweise Fluoreszenz.

7.3 Technisches

Abb. 5a

Abb. 5 a-c: Kryotom im Originalzustand und nach Umbau.
5a: Kryozom mit Isoliergehäuse, Mikroskop mit angebauter Kamera in ursprünglicher Arbeitsposition (Neigungswinkel etwa 30 Grad), der Unterkante des Betrachtungsfensters aufliegend.
5b: Kryotom nach Entfernung des Gehäuses, Mikroskop in gleicher Position wie in Abb. 5a. Der in seiner höchstmöglichen Stellung befindliche, vertikal stehende Objekttisch liegt deutlich unterhalb des Mikroskopobjektivs, sodaß dieses geneigt werden muß und der Betrachtungswinkel stark von 90 Grad abweicht.
5c: Kryotom nach Höhersetzen des Objekttisches mittels eines aus Vierkantstahl hergestellten Adapters. Um das Messer wieder in den Bewegungsbereich des Objekts zu bringen, wurde der Messerhalter durch einen massiven Messingsockel ebenfalls angehoben. Das Mikroskop kann jetzt horizontal eingestellt werden, der Betrachtungswinkel beträgt jetzt 90 Grad, sodaß sich bei korrekter Fokusierung die ganze Schnittfläche in der Schärfeebene befindet.

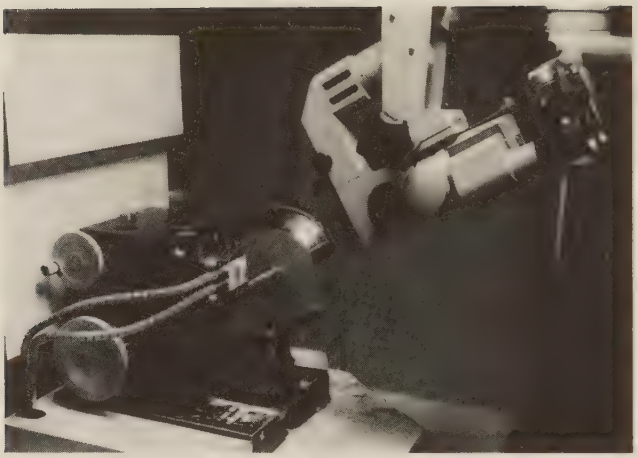


Abb. 5b

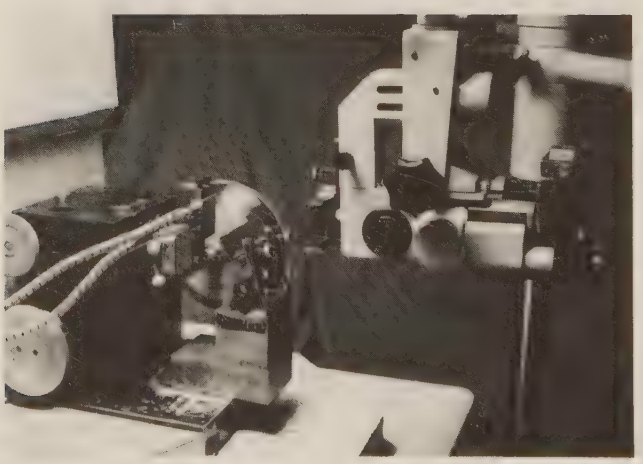


Abb. 5c

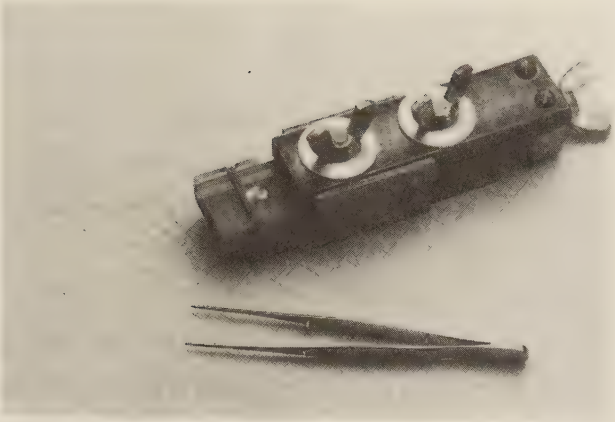


Abb. 6: In Eigenkonstruktion gebautes Gerät zur Herstellung von Kapillaren mit etwa 0,1 Mikroliter Fassungsvermögen aus handelsüblichen 1,0-Mikroliter Microcaps.
Auf dem Schneidetisch liegen drei Kapillaren, er faßt bis zu 28 Stück. Links von dem Gerät liegen fünf gekürzte Kapillaren mit den gewonnenen Teilstücken, daneben eine Kapillare in Originallänge und eine Splitterpinzette, die zur Handhabung der nur wenige Millimeter langen Bruchstükke diente.
Die horizontale Flügelschraube rechts am Gerät dient zur Feineinstellung der Schnittlänge, und die rechte von den beiden Flügelmuttern an der Geräteoberseite fixiert das Einstellmaß. Durch Anziehen der linken Flügelmutter werden die auf dem Schneidetisch liegenden Kapillaren festgeklemmt und ihr Verrutschen während des Schneidvorgangs verhindert.
Das untergelegte Millimeterpapier dient zum Größenvergleich.

Danksagung

Herzlich bedanken möchte ich mich hiermit bei Herrn Prof. Dr. Plester für die Überlassung dieser Arbeit, sein Interesse an deren Fortgang und seine freundliche Unterstützung bei ihrer Fertigstellung.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr. Giebel. Seine allzeitige Erreichbarkeit und seine stetige Bereitschaft, mit Rat und Tat zu helfen, waren von unschätzbarem Wert.

Für seine fachmännische Beratung in fototechnischen Dingen und seine Unterstützung bei der Beschaffung und Bearbeitung des Filmmaterials spreche ich Herrn Ilmer meinen Dank aus.

Auch meinem Kollegen Meier, der mir nicht nur in der Anfangsphase zur Seite stand, danke ich für seine kollegiale Hilfestellung.

Herrn Dr. Kaupp danke ich für seine Zeit und Geduld bei der Einarbeitung.

Lebenslauf

Am 14. Dezember 1952 wurde ich, Elmar Erich Göbel, als Sohn des Bundesbahnbeamten Otto Göbel und seiner Ehefrau Anni Göbel, geborene Arbeiter in Lauda geboren. Meine Kindheit verbrachte ich bei meinen Eltern.
Von April 1959 bis Juli 1964 besuchte ich die Volksschule in Lauda und ab September 1964 das Wirsberg-Gymnasium in Würzburg, wo ich am 08. Juni 1973 die Reifeprüfung absolvierte.
Den Zivilen Ersatzdienst leistete ich von November 1973 bis Februar 1975 im Kreiskrankenhaus Tauberbischofsheim.
Im Sommersemester 1975 und Wintersemester 1975/76 war ich an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen im Fach Chemie immatrikuliert.
Von April 1976 bis März 1978 arbeitete ich als Pflegehelfer in der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik Tübingen.
Im Sommersemester 1978 begann ich das Medizinstudium an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen; das Praktische Jahr leistete ich von April 1983 bis März 1984 im Kreiskrankenhaus Reutlingen ab. Mit erfolgreich bestandener Ärztlicher Prüfung beendete ich das Medizinstudium am 09. April 1984.